GHEORGHE GLUHOVSCHI

ACTUALITĂȚI ÎN IMUNOLOGIA CLINICĂ

CONSTANTIN BONA
MARIAN BISTRICEANU
MIRON BOGDAN
HORAȚIU D. BOLOȘIU
IOAN I. BRUCKNER
ADRIANA COLIȚĂ
DAN COLIȚĂ
DORU DEJICA
MIHAIL DRAGOMIRESCU
DOINA DRUGĂRIN
ILEANA DIMA
NICOLAE GHILEZAN
LAVINIA NOVEANU
PETER TERNESS
ADALBERT SCHILLER
VIRGINIA TRANDAFIRESCU
SIMONA REDNIC
IOANA MOȚOIU RĂILEANU

HELICON

ACTUALITĂȚI ÎN IMUNOLOGIA CLINICĂ

Coordonator
Gheorghe Gluhovschi



Un colectiv științific este un fel de amplificator de idei.
Komarov – *Dincolo de autoritatea științei*

INTRODUCERE

A trata un subiect așa de pretențios ca imunologia clinică la sfârșitul acestui mileniu când locomotivele științei aleargă tot mai alert, pare a fi un act de curaj.

Ne-am asumat riscul de a ne afla în acest tren al progresului, dat fiind faptul că nu există o altă alternativă. Imunologia din țara noastră – cu toate dificultățile prin care trece în prezent – trebuie să țină cât de cât pasul la nivel informațional, și acolo unde este posibil și al activității practice de cercetare cu ceea ce se petrece pe plan mondial. Atunci când condițiile materiale o vor permite, iar generația tânără care vine din urmă va stăpâni imunologia modernă, ne vom situa în trenul științei și progresului pe locul pe care îl dorim.

Întrucât condițiile materiale și dorința de cunoaștere a dus generații de cercetători ai acestei țări peste hotare, unii dintre ei, și nu puțini ajunși pe culmile imunologiei, considerăm că aceștia trebuie să returneze țării care i-a format în tinerețe în condițiile dificile a acelor ani, măcar puțin din munca și realizările lor, pregătind tinerele talente autohtone, care au abordat domeniul atât de greu și fascinant al imunologiei.

Colegii care s-au angajat a colabora la această lucrare atât de complexă au abordat cunoștințe de mare dificultate care traduc orele și zilele lor de muncă în laboratoare și biblioteci.

Poate că autorii vor trăi pe lângă un moment de satisfacţie şi unul de nostalgie, acela de a nu fi în rândul generaţiilor de astăzi a tinerilor imunologi. Privind aşa cum este firesc spre culmile ştiinţei, cercetătorii actuali poate vor uita pe cei care în laboratoare modeste, dar plini de entuziasm, au deschis cu ani în urmă, la noi, drumul imunologiei moderne.

Cu toate dificultăţile existente în prezent, un grup de cadre medicale implicate în imunologia clinică au pornit la această activitate cu speranţa că lucrarea de faţă va permite imunologiei clinice din ţara noastră să dispună de un material de sinteză cât mai complet şi mai actual.

AUTOIMUNITATEA

CONSTANTIN A. BONA

Department of Microbiology
The Mount Sinai School of Medicine
Annenberg Building
New York
USA

Mulţumesc d-lui student Călin Ţaţu – Universitatea de Medicină şi Farmacie Timişoara pentru colaborarea la redactarea textului în limba română.

I. ISTORIC

Proprietatea majoră a sistemului imun este distingerea self-ului de nonself și, prin aceasta, menținerea homeostaziei macromoleculare. Sistemul imun, prin elementele sale efectoare, anihilează nu numai macromoleculele, microbii sau celulele străine, dar și propriile celule sau proteine defuncte.

În anumite situații organismul animal poate dezvolta un răspuns imun împotriva propriului self, stare denumită autoimunitate, ce stă la originea bolilor autoimune. Ehrlich a fost primul care, la începutul secolului a intuit necesitatea logică a vertebratelor pentru mecanisme specializate care să inhibe răspunsul imun împotriva propriului self. Cu această ocazie el a introdus noțiunea de „horror autotoxicus", pentru a descrie consecințele dramatice ale recunoașterii self-ului, acest eveniment crucial în inducerea reacției autoimune. Conceptul a fost acceptat de imunologi timp de mai multe decade, fără însă o înțelegere prea exactă a proceselor ce împiedică răspunsurile imune împotriva self-ului.

Burnet, o dată cu elaborarea teoriei selecției clonale (1), a încercat să definească mecanismele ce previn răspunsul antiself și propune deleția sau blocarea dezvoltării clonelor celulare ce exprimă receptori pentru antigenele fetale. Acest fenomen a fost denumit toleranța naturală. De asemenea, Burnet a presupus că expansiunea clonelor self-reactive, tardiv în dezvoltarea ontogenetică, rezultă în urma mutațiilor somatice a genelor ce codifică pentru receptorul limfocitar de antigen; consecința este conversia clonelor nonself-reactive în clone self-reactive.

Absența sau frecvența scăzută a celulelor imune specifice pentru antigene self a fost explicată de studiile timpurii drept rezultat al deleției clonale, iar mai recent rezultate similare au fost sugerate de experimentele făcute pe animale himerice sau transgenice. De exemplu, în animale transgenice ce

exprimă pe suprafaţa celulară antigene străine, precum lizozimul din ou de găină (HEL), sau antigene allo–MHC, are loc deleţia limfocitelor specifice pentru aceste antigene(2).

Observaţii ulterioare au sugerat că nu toţi precursorii self sunt deletaţi, constatare care l-a determinat pe Nossal şi colab., să propună conceptul de *anergie*(3). În conformitate cu conceptul lor, dezvoltarea limfocitară include o etapă în care celulele sunt sensibile la factorii tolerogeni sau trec printr-un stadiu obligatoriu în care diferenţierea este în mod normal paralizată. În această fază, în urma întâlnirii unui antigen, ele devin funcţional inactive, dar nu deletate. Prin urmare, limfocitele capabile să recunoască antigenele self şi să fie stimulate de către acestea cu producerea de anticorpi sau celule T self-agresive, cu potenţial lezional tisular ce conduce la declanşarea manifestărilor autoimune, sunt anergizate.

Analize riguroase permit în prezent definirea mai multor categorii self-reactive, atât în populaţia B cât şi T:

1. **Clone B producătoare de anticorpi polispecifici.** Aceşti anticorpi naturali prezintă o afinitate de legare slabă pentru multiple antigene self cât şi nonself. În general, ei sunt codificaţi de gene germline ce nu au suferit procese de hipermutaţie somatică sau comutare a izotipului catenei H. Efectul benefic al acestor anticorpi naturali nu este bine documentat, dar ei ar putea reprezenta un mijloc de protecţie prin neutralizarea metaboliţilor toxici(4) sau eliminarea celulelor maligne ori senile(5), sau un mecanism defensiv timpuriu împotriva diverselor microorganisme(6), până la elaborarea unui răspuns imun înalt specializat.

2. **Clone B producătoare de anticorpi cu mare specificitate pentru autoantigen.** Tehnologia hibridomului permite imortalizarea celulelor precursor secretoare de autoanticorpi monospecifici, atât de la subiecţi normali cât şi de la subiecţi predispuşi la boli autoimune(7, 8). Nu a fost însă posibilă demonstrarea rolului acestor anticorpi ca factor cauzal de boală.

3. **Clone celulare B producătoare de anticorpi patogenici.** Aceşti anticorpi declanşează boala şi induc leziuni tisulare în urma transferului lor experimental sau natural.

4. **Celule T responsabile pentru reacţii mixte limfocitare autologe.** Asemenea celule par a fi consecinţa neanticipată a selecţiei timice pozitive şi prezintă specificitate pentru antigenele de histocompatibilitate MHC. Activarea lor decurge chiar şi în absenţa antigenelor nonself, în urma interacţiei cu moleculele MHC clasa II(9).

5. **Celule T autoantigen-specifice, prezente la indivizi sănătoşi şi bolnavi.** Clone celulare T capabile să recunoască peptidele self au fost izolate din sângele periferic al unor persoane sănătoase. De exemplu, celule T specifice pentru peptide derivate din colagenul tip II au fost găsite atât la subiecţi sănătoşi cât şi subiecţi cu artrită reumatoidă (10).

6. **Celule T patogenice capabile să transfere boala autoimună.** În mod implicit, astfel de clone T reactive pot fi demonstrate doar în sisteme experimentale, pe animale inbred, identice din punct de vedere genetic.

Pornind de la existenţa clonelor self-reactive în animalele normale, Jerne (1974) elaborează o teorie opusă a sistemului imun, *teoria reţelei* (11, 12). În acord cu acest concept, funcţia majoră a sistemului imun este de a „privi" spre „interiorul" său, mai degrabă decât spre exterior, iar suportul acestui rol fundamental este reţeaua extrem de diversă şi specifică creată de domeniile variabile V interconectate prin idiotipi. Aceşti markeri de specificitate, exprimaţi pe suprafaţa receptorului de antigen, fie lg sau TCR, sunt recunoscuţi de cei ai altor clone şi formează în ansamblu *imaginea internă a* universului antigenelor self şi nonself. Clonele comunică permanent între ele pe baza dicţionarului idiotipic ce structurează o reţea idiotipică extensivă, astfel construită încât să asigure în tot cursul vieţii homeostazia macromoleculară generală.

Există în prezent numeroase date ce demonstrează că repertoriul imun al vertebratelor conţine clone limfocitare diferenţiate în sensul recunoaşterii antigenelor self, nonself sau a ambelor. De asemenea, s-au acumulat numeroase date experimentale ce demonstrează că alterarea proceselor de interrecunoaştere în cadrul sistemului imun, precum şi în contextul interacţiei acestuia cu structurile self, pot determina apariţia bolilor autoimune.

În definirea autoimunităţii elementul unificator ce trebuie luat în considerare este destrucţia ţesuturilor self, mediată pe calea unor răspunsuri imune umorale şi/sau celulare. Deşi consecinţa acestei reactivităţi aberante este de cele mai multe ori leziunea tisulară, în unele situaţii, autoanticorpii împotriva receptorilor celulari pot genera, prin mimarea ligandului natural, semnale stimulatoare sau inhibitoare; în acest caz nu sunt produse anomalii celulare structurale ci doar funcţionale.

Noile tehnici aplicate curent în imunologia şi biologia moleculară (DNA recombinant, PCR), dublate de cercetarea îndelungată a unor modele genetice animale, au permis în cele din urma identificarea bazelor moleculare pentru multe stări şi boli autoimune. Oricum, până în prezent nu a fost elaborat nici un concept unitar care să explice etiologia numeroaselor maladii autoimune, fiecare cu o patologie distinctă. Astăzi, descifrarea acestor entităţi etiopatogenice, înţelegerea mecanismelor şi a bazelor lor moleculare, constituie o provocare majoră pentru oamenii de ştiinţă.

II. AUTOIMUNITATEA LA NIVEL CELULAR ȘI MOLECULAR

Bolile autoimune pot fi mediate de autoanticorpi sau/și de limfocite T self-reactive, cu specificitate pentru autoantigene. Prin urmare, bolile autoimune pot fi clasificate în funcție de mecanismul efector ce induce leziunea tisulară, și anume *autoanticorpii* sau *celulele T autoreactive*. Oricum, efectorii pot inter-

Tabelul 1

Boli autoimune organ-specifice și boli autoimune sistemice

Boala	Efectorul	Modelul experimental
A) Boli organ-specifice		
Miastenia gravis	Anticorpi anti-AchR	Oboseala indusă prin anti-AchR la animale
Boala Graves	Anticorpi anti–TSHR	Tiroidita TG-indusă la șoareci. Tiroidita spontană la șobolanii
Boala Hashimoto	Anticorpi anti-TG și anti-peroxidaza tiroidiană	Buffalo
Diabet insulino-rezistent asociat cu acantoza nigricans sau ataxia teleangectazia	Anticorpi anti-receptor insulinic	
Diabet zaharat tip I	Anticorpi anti-celule insulare (glutamat decarboxilaza, carboxipeptidaza H), celule T	Boala spontană la șoarecele NOD și șobolanul BB
Anemia pernicioasă	Anticorpi anti-celule parietate gastrice și anti-factor intrinsec	
Boala Addison	Anticorpi anti-celule adrenale	
Hipoparatiroidismul idiopatic	Anticorpi anti-celule paratiroidiene	
Azoospermia	Anticorpi anti-spermatici	Orhita antigen-indusă la animale
Insuficiența ovariană prematură	Anticorpi anti-celule interstițiale și corpus luteum	
Uveoretinita	Anticorpi și celule T specifice pentru antigenul S	Uveoretinita antigen-indusă la animale
Vitiligo	Anticorpi anti-melanocit(?)	
Pemphigus	Anticorpi anti-desmosomali (desmogleina, plakoglobina)	

Boala	Efectorul	Modelul experimental
Ciroza biliară primitivă	Anticorpi anti-mitocondriali (acetil transferaza)	
Scleroza multiplă	Celule T MBP-specifice	
Anemia hemolitică autoimună	Anticorpi Coombs sau aglutinine la rece, anti-i și I	Șoarecele NZB
Trombocitopenia idiopatică	Anticorpi anti-plachetari	Șoarecele (BXSBxNXB)F1
B) Boli sistemice		
Sindromul Goodpsature	Anticorpi anti-membrană bazală	Nefrita Masugi
Artrita reumatoidă	Celule T, factori reumatoizi	Artrita colagen – și adjuvant-indusă la șoareci și șobolani, artrita spontană la șoarecele MRL–lpr/lpr
Sindromul Sjögren	Anticorpi anti-Ro, anti-Ra, celule T	Șoarecele homozigot lpr
SLE	Anticorpi anti-nucleari (DNA, complexe RNA–proteine, histone)	Afecțiuni spontane la șoarecii (NZBxW)F1, BXSB, MRL–lpr, gld, câini
Scleroderma	Anticorpi anti-topoizomerază I, anti-nucleari, anti-colagen I și IV	Boli spontane la șoarecel TSK
CREST	Anticorpi anti-centromer	
Polimiozita	Anticorpi anti-aminoacil tRNA sintetaza	

acționa cu antigene ce au o localizare tisulară unică („țesut-specifice"), sau cu antigene prezente pe variate țesuturi și în diverse organe. Maladiile autoimune cauzate de autoanticorpi patogenici sau celule T specifice pentru antigene exprimate într-un singur organ sunt denumite *organ-specifice*. Prin contrast, bolile autoimune ce implică autoantigene exprimate de țesuturi variate sunt *boli autoimune sistemice* (tabelul 1).

1. MECANISME MOLECULARE ÎN INDUCEREA AUTOIMUNITĂȚII

În prezent, stările autoimune sunt considerate cel mai frecvent rezultatul anihilării sau diminuării toleranței naturale față de structurile self, dar originea anomaliilor imunologice ce determină alterările primare din bolile

autoimune este încă puțin definită. În general, bolile autoimune par a avea o etiologie multifactoriala, în care este necesară acțiunea convergentă a unor factori genetici, imunologici, hormonali și de mediu.

Inițierea fenomenelor autoimune se raportează la activarea limfocitelor self-reactive și implicit, la recunoașterea antigenelor self. S-au obținut rezultate foarte clare ce sugerează ca limfocitele self-agresive întâlnesc și sunt induse de *autoantigene sechestrate anatomic* (13). Există câteva exemple în acest sens, cum ar fi: oftalmia simpatică(14), ce apare în urma unor leziuni ale ochiului, orhita post-vasectomie sau encefalita alergică experimentală (EAE), produsă prin injectarea proteinei bazice mielinice (MBP).

Un proces încă neelucidat este recunoașterea epitopilor self, în particular de către celulele T. În principiu, limfocitele T pot să recunoască și să fie activate de epitopi dominanți, subdominanți sau criptici(15). Calitatea unui determinant antigenic de a fi criptic sau dominant este dependentă de mai mulți factori – procesarea antigenului, afinitatea de legare a peptidului pentru molecula MHC precum și prezența unor secvențe aminoacidice critice în desetopul moleculei MHC. În măsura în care sunt procesați și prezentați eficient, epitopii dominanți induc în general toleranța, în timp ce epitopii criptici sau subdominanți sunt slab tolerogeni și, în anumite condiții ei pot anihila toleranța la self.

Un alt mecanism ce poate induce proliferarea limfocitelor self-reactive este *mimarea moleculară* (16). Mimarea moleculară constă în prezența unor determinanți secvențiali sau conformaționali comuni, atât la antigenele străine cât și la cele self. Există secvențe lineare identice de aminoacizi atât în proteinele microbiene cât și în cele ale organismului gazdă, care generează cross-reactivitate imunologică. Numeroase exemple sugerează rolul unor fragmente pentamer în antigenele self și nonself în declanșarea acestei reacții încrucișate. De exemplu, proteina M de la Streptococcus conține un pentamer (EKSKE) ce fixează anticorpii miozin-specifici sintetizați în cursul febrei reumatice acute. Secvențe de omologie în nitrogenaza de la *Klebsiella* și antigenul HLA–B27 ar putea fi implicate în etiologia spondilitei ankilopoetice, iar omologia secvențială dintre colagenul III și proteina EBNA 1 codificată de genomul EBV ar putea avea un rol în artrita reumatoidă. Similar, analogia dintre proteina VP2 a virusului polio și AchR ar determina anticorpi cu reactivitate încrucișată ce blochează receptorul colinergic.

O formă alternativă de mimare moleculară este determinată în mod esențial de similitudinea structurală moleculară (un astfel de exemplu este reactivitatea încrucișată față de proteina streptococica α–helicală și α–helix-ul unor proteine de suport ale celulei eucariote – α-keratina, miozina, tropomiozina, laminina, vimentina).

Se pot diferenția patru tipuri de mimare moleculară pe baza unor criterii de structură spațială sau lineară a determinantului antigenic: a) epitopi

secvenţiali *identici*, comuni pentru proteinele self şi străine; b) epitopi *similari*, dar nu identici, ce au o structură conformaţională antigenică; c) în anumite situaţii, chiar şi epitopi diferiţi, cu o cross-reactivitate limitată, sunt suficienţi pentru activarea celulelor T.

În activarea clonelor self-reactive generarea unor *imunogeni neoself* are un rol în prezent bine definit. Asemenea determinanţi sunt produşi consecutiv alterării chimice sau induse de virusuri a antigenelor self. Virusurile pot genera fenomene autoimune prin iniţierea sintezei unor peptide self modificate şi expuse de membrana celulară în procesul exocitozei virale; un alt mecanism patogenic cu rezultate similare este reprogramarea de către virus a aparatului transcripţional, translaţional şi postranslaţional al celulei, cu sinteza unor macromolecule neobişnuite, uneori nefuncţionale dar recunoscute drept nonself şi deci capabile să promoveze autoreactivitate. Este fapt cunoscut că anumite virusuri activează expresia ectopică a receptorilor Fc sau redistribuie antigenele intracelulare – antigenul nuclear SS-B este direcţionat anormal spre suprafaţa celulară – , sau modifică numeric anumite molecule pe membrana celulelor ţintă – adenovirusul uman 12 sau virusul leucemiei induse prin radiaţie (RaLV) reprimă transcripţia antigenelor MHC (17). Pe de altă parte, anumite medicamente pot contribui la răspunsul autoimun prin generarea de neoepitopi. În această categorie intră procainamida, sărurile de mercur şi de aur şi penicilamina (18).

Erorile în *selecţia negativă* ce are loc în timus ar putea fi un alt factor generator al patologiei moleculare autoimune. O posibilă dovadă experimentală pentru un astfel de mecanism ar fi dezvoltarea autoimunităţii asociată cu reacţii grefă contra gazdă (GVH) sau şoarecele iradiat şi reconstituit cu măduva osoasă şi tratat cu ciclosporina, când celulele citotoxice transplantate atacă constituenţii gazdei (19).

Un rol în activarea clonelor self-reactive îl au şi *activatorii limfocitari policlonali*. Un număr mare de compuşi bacterieni funcţionează ca activatori policlonali direcţi şi induc secreţia de autoanticorpi atât in *vivo* cât şi *in vitro*. In general, aceşti anticorpi sunt de izotip μ şi au o afinitate joasă de legare, în timp ce destrucţiile tisulare de natură autoimună sunt datorate unor anticorpi IgG de mare afinitate. Activatorii policlonali ai celulelor T, printre care superantigenele (ex. la om, nucleoproteina virusului rabic), pot de asemenea induce reacţii autoimune sistemice (20, 21).

Nu în ultimul rând, perturbarea reţelelor de reglare imună, este considerată de unii autorii drept cauza primară a sindroamelor autoimune. Există boli autoimune umane şi experimentale în care celulele T şi B sunt alterate sau apar anomalii în reţeaua idiotipică.

Pentru a sumariza, mecanismele care contribuie independent sau convergent la activarea limfocitelor self-reactive sunt:

a. eliberarea de antigene sechestrate;

b. recunoaşterea unor epitopi criptici sau subdominanţi;
c. recunoaşterea unor determinanţi neoself;
d. mimarea moleculară;
e. erori în stabilirea self toleranţei;
f. activarea policlonală a celulelor T sau/şi B;
g. perturbări în imunoreglare.

2. GENETICA PROCESELOR AUTOIMUNE

2.1. AUTOIMUNITATEA: AFECTARE MONOGENICĂ SAU POLIGENICĂ?

Deşi originea proceselor autoimune rămâne obscură, anumite gene au fost considerate prerechizitorii în determinarea fenomenelor self-reactive. În timp ce majoritatea bolilor autoimune au o etiologie multifactorială, există în prezent modele experimentale bine definite, în care un singur defect genic este responsabil pentru apariţia maladiei autoimune. Astfel, un sindrom multi-autoimun (aplazie timică, glomerulonefrită, anemie hemolitică autoimună, pneumonită, granulostoză a pielii) în şoarecele motheaten ("mâncat de molii"), este datorat unei mutaţii pe cromozomul 6; s-a demonstrat recent că gena *motheaten* codifică o proteină fosforilată. Sindromul scleroderma-like, apare la şoarecele tight skin (TSK), rezultă printr-o mutaţie pe cromozomul 2. În fine, sindromul lupus-like, reprodus la modelele genetice lpr şi gld, este asociat unei mutaţii în gena *fas* ce codifică un receptor (APO1, prezentând oarecare omologie cu receptorul TNF şi cu un receptor NGF) care controlează apoptoza în limfocite la şoarecele lpr şi un ligand pentru acest receptor, la şoarecele gld (22). Ambele defecte genetice se manifestă printr-un sindrom limfoproliferativ, produs de expansiunea celulelor T $CD4^-CD8^-$ dublu negative (DN), capabile să activeze sinteza de autoanticorpi de către celulele B, cu aceeaşi specificitate ca şi cei întâlniţi în lupusul eritematos sistemic la om.

În cazul bolilor sistemice, un ansamblu de gene poate fi implicat. La şoarecele New Zealand Black (NZB), care dezvoltă spontan fenomene lupus-like şi anemie hemolitică autoimună, gene responsabile pentru hiperglobulinemie, producţia de anticorpi anti-timocitari şi anti-eritrocitari, sau

favorizând sindromul nefritic lupic, au fost cartate prin mijloace clasice pe diferiți cromosomi.

Numeroase boli autoimune sunt asociate cu anumite haplotipuri HLA, fapt ilustrat în tabelul 2.

Tabelul 2

Asocierea frecventă a unor antigene sau haplotipuri HLA cu anumite stări autoimune

Boala autoimună	Antigene HLA	
Diabetul zaharat insulino-dependent (IDMM)	DR3,	DQw2
	DR4	DQw3
	DR2	DQw1 (negativ)
Artrita reumatoidă (RA)	DR4	DQw3
	DR1,	DQw (slab)
Scleroza multiplă (MS)	DR2,	DQw1
Boala celiacă (CD)	DR3	DQw2
	DR7,	DQw2
Pemphigus vulgaris (PV)	DR4,	DQw3
	DR6,	DQw (DR14, DQw5)
Artrita juvenilă reumatoidă pauciarticulară (pJRA)	DR8	
	DR5 (slab)	
Lupusul eritematos sistemic (SLE)	DR3,	DQw2
	DR2,	DQw1
	deficit C2, C4	
Sindromul Sjögren (SS)	DR3	
Narcolepsia	DR2,	DQw1
Miastenia gravis (MG)	DR3,	DQw2
Boala Graves	DR3,	DQw2
Dermatita herpetiformă	DR3,	DQw2

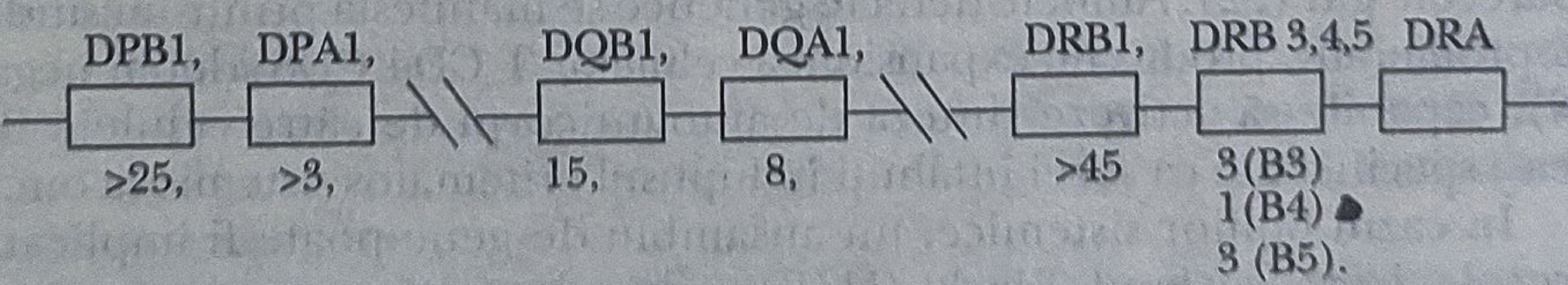


Figura 1. Diversitatea alelică a moleculelor HLA clasa a II-a. Numărul de alele (definit prin variantele de secvențe aminoacidice codificate de exonul 2) este precizat sub fiecare locus.

2.2. MECANISME GENETICE ÎN AUTOIMUNITATE

În principiu, asocierea unor stări autoimune cu anumite antigene de clasa II, poate reflecta: a) un linkaj dezechilibrat cu alte gene de susceptibilitate polimorfe, cum ar fi TNF sau genele pentru complement, de asemenea plasate în regiunea MHC; b) variații structurale în secvențele reglatoare ce controlează expresia antigenelor de clasa II.

Implicarea antigenelor MHC în susceptibilitatea de boală autoimună presupune unul din mai multe mecanisme imunologice. Un factor în acest sens îl reprezintă reziduurile polimorfe din molecula de clasa II care leagă diferențial antigenul specific și îl prezintă limfocitelor autoreactive, model denumit *selecția determinantului*. Alternativ, deoarece expresia TCR este controlată de molecula polimorfă MHC II exprimată în cursul selecției timice, când se stabilește repertoriul funcțional al sistemului imun, spectrul receptorilor de antigen T poate fi diferit la indivizi cu genotipuri diferite. Acesta este modelul *repertoriului TCR*. Celulele T vor fi mai susceptibile la selecția controlată de epiteliul timic care expune antigene de clasa II. Studiul la nivel molecular al diabetului zaharat tip I, al artritei reumatoide și al bolii celiace, a evidențiat secvențe critice de aminoacizi, care conferă rezistență sau susceptibilitate la boală.

Oricum, până în prezent nu există nici o legătură categorică între un anumit haplotip celular T sau un anumit polimorfism genetic al TCR și vreo stare autoimună. Singura excepție este encefalita alergică experimentală (EAE), indusă la șoareci și la șobolani prin injectarea proteinei bazice mielinice (MBP), în care s-a confirmat că celule T specifice pentru anumiți epitopi ai MBP folosesc un repertoriu restrâns de gene Vβ și Vα, din aceeași familie (Vβ8.2, Vα4) (23). Această utilizare preferențială a genelor V pentru TCR nu a fost însă demonstrată în boli autoimune asociate unor infecții virale, situația descrisă mai sus fiind unica excepție.

Controlul transcripțional al expresiei antigenelor MHC II este complex și implică factori reglatori cis/trans, care asigură sinteza tisular și temporal specifică a moleculelor MHC. Activatorii sau represorii transcripționali aparțin de obicei unor familii multigenice, cu expresie variabilă și combinată în diverse țesuturi. Interacția sau concurența acestori factori la nivelul regiunii promotor sau enhancer modulează fin transcripția antigenelor MHC, sub influența unor stimuli intracelulari (activatori/represori virali) sau extracelulari (stres celular hipoxic, șoc termic, alcool). Mutații sau polimorfisme în secvențele de control ale genelor MHC vor modifica astfel echilibrul de acțiune al acestor factori, cu alterarea expresiei antigenelor MHC sau cu inducerea unor antigene cu potențial autoimunogen. Deși este mai mult imunodeficiență decât autoimunitate, se poate aminti sindromul „bare lymphocyte", în care

limfocitele sunt "dezbrăcate" de molecule de histocompatibilitate clasa I sau II, prin absenţa constitutivă a unui activator transcripţional care leagă promotorul genelor MHC şi permite fixarea RNA polimerazei II.

2.3. GENE V UTILIZATE PREFERENŢIAL ÎN lg ŞI TCR PATOGENE

O atenţie considerabilă a fost acordată caracteristicilor moleculare ale genelor V care stau la baza diversităţii şi specificităţii anticorpilor. Astfel, sesizarea folosirii preferenţiale numai a unor familii de gene variabile sau a asocierii particulare a unor catene Vh cu Vk în structura autoanticorpilor, a contribuit semnificativ la înţelegerea substratului molecular al reacţiilor din cursul bolilor autoimune.

Plecând de la omologia secvenţelor DNA pentru genele variabile germline ale lg, acestea au fost clasificate în mai multe familii de gene V. La om, aproximativ 100–200 segmente V au fost incluse în 7 familii, iar cele 80 de gene Vk au fost împărţite în 4 familii. Analiza secvenţială a fragmentelor germline exprimate la şoareci cu predisoziţie pentru boli autoimune sau la subiecţi umani ce dezvoltă maladii sau sindroame autoreactive, n-a reuşit să evidenţieze vreo diferenţă semnificativă în comparaţie cu animalele normale ce exprimă acelaşi haplotip Vh sau cu indivizii umani normali. Faptul că expresia genelor V precum şi asocierea Vh:Vk în autoanticorpi este aleatoare a fost demonstrat recent prin folosirea hibridoamelor care produc astfel de anticorpi.

Oricum, există câteva excepţii de la regula generală prezentată mai sus şi anume, o uşoară supraexpresie a fragmentelor localizate 3' în regiunea fragmentelor V, sau o utilizare pronunţată a familiei Vh4 în autoanticorpi cu o anumită specificitate (anticorpi anti-eritrocitari, cu proprietăţi de aglutinine la rece). În ce priveşte asocierile Vh:Vk, o combinaţie particulară a fost relevată la şoarece, în structura unor autoanticorpi specifici pentru antigene polizaharidice eritrocitare demascate în urma tratamentului cu bromelaină, şi care cross-reacţionează cu trimetilamoniul; echivalentul uman al acestor anticorpi este reprezentat de aglutininele la rece, ce recunosc epitopi eritrocitari de natură polizaharidică.

Aşa cum s-a discutat anterior, Burnet încerca să explice autoimunitatea drept rezultat al conversiei clonelor specifice pentru antigene străine în clone celulare self-reactive, în urma unor mutaţii în genele ce codifică pentru lg sau TCR. Secvenţializarea genelor Vα şi Vβ exprimate în celule T autoreactive a arătat că aceste gene au structura germline, fără mutaţii somatice, la fel ca în

celulele T specifice pentru antigenul nonself. Deleția sau adiția de nucleotide P sau adiția unor secvențe N în cursul asamblării genelor Vα și Vβ reprezintă o caracteristică fundamentală a generării variabilității imunoglobulinelor și a receptorilor de antigen ai celulelor T și decurge prin mecanisme ce par la fel de valabile atât pentru celulele specifice pentru autoantigen cât și pentru cele non-self specifice. O serie de date recente asupra genelor V folosite în sinteza autoanticorpilor sugerează că, în timp ce majoritatea anticorpilor de acest tip includ gene V identice ca secvența cu fragmentele germline, există totuși autoanticorpi ce prezintă o frecvență mare a mutațiilor în regiunea V. Această observație a fost atestată de unii autori în sprijinul ipotezei conform căreia selecția autoanticorpilor este dirijată de antigen. Cu toate acestea, cel puțin la om, este foarte greu de admis că în lupus, DNA-ul eliberat din celule sau complexele imune circulante sunt stimulii pentru sinteza anticorpilor anti-DNA sau a factorilor reumatoizi, chiar dacă acești anticorpi prezintă uneori regiuni extinse de hipermutație somatică.

2.4. CITOKINELE ȘI GENELE LOR ÎN AUTOIMUNITATE

Datele experimentale acumulate în prezent au dus la concluzia că, în unele cazuri, efectorii direcți ai autoagresiunii tisulare – autoanticorpii și clonele T autoreactive – sunt activați și apoi repertoriul lor este expandat prin factori reglatori solubili a căror secreție este alterată. Anomalii în producția unor citokine au fost notate în lupusul uman și experimental (tabelul 3) precum și în artrita reumatoidă și în cea experimentală. Contribuția limfokinelor și interleukinelor la boală autoimună este, oricum, puțin descifrată și nu permite concluzii ferme. Pentru exemplificare, în lupusul eritematos, prototipul de boală autoimună sistemică în care producția de autoanticorpi este o trăsătură dominantă, concentrația de citokine ce stimulează proliferarea celulelor B pare a fi importantă. Legătura dintre etiologia bolii și dereglarea secreției de citokine rămâne însă neclară, fără a preciza categoric dacă sinteza anormală de citokine inițiază starea autoimună, contribuind la injuriile primare, sau nu este decât un epifenomen ce reflectă alterările consecutive injuriilor secundare sau din faza destructivă a bolii autoimune, în care o multitudine de autoantigene sunt eliberate și o multitudine de clone celulare sunt activate.

Rolul sistemului complement în distrugerea elementelor celulare nonself este bine precizat și analizat molecular. Faptul că genele pentru complement sau pentru receptorii acestuia pot fi alterate în maladii autoimune înclină pentru rolul acestora în patogeneza autoimună sau în predispoziția pentru boli autoimune.

Tabelul 3

Implicarea citokinelor în lupusul eritematos sistemic. Alterarea sintezei interleukinelor sau citokinelor în procesele autoimune poate fi primară sau secundară bolii, iar acțiunea lor directă sau indirectă pe efectorii celulari imuni

Tipul de LES	Producția scăzută *in vitro*	Producția spontană	Răspuns celular B BCGF[a]	BCDF[a]	Observații
LES uman	IL–1, IL–2, IFN–γ, TNFα (asociat DR–2)	IL–2 (crescută în ser); IFNα (crescut în ser)	>>[b]	>>	IFNa crește producția de autoanticorpi in vivo. Injectarea de IFNα și IFN–γ precipită debutul bolii. Producție crescută de TNF (DR3–asociată). Secreție crescută de lg prin IFN–γ.
Șoarecele (NZBxNZW)F1	IL–2, TNFα	IFN–γ (ser) Factorul seric în NZB amplifică maturarea precursorilor celulelor B	>>	>>	Injectarea de IFN–γ agravează nefrita Anti–IFN–γ suprimă nefrita. Injectarea de TNFα întârzie nefrita.
Șoarecele BXSB MRL/lpr	IL–2 IL–2, IL–3, IFN–γ	IFN–γ (ser) BCDF, IL–6, TRF2, IFN–γ, TNFα, TNFβ și Eta–1 (toate produse de celule T); IL–6 crescută în ser	>> N	>> N	mRNA crescut pentru IL–1β și TNFα localizat în rinichi. Injectarea de IL–1 amplifică artrita. Autoanticorpii induc producția de IL–3 IL–2previne boala (gena introdusă printr-un vector viral).
Șoarecele motheaten	?	BMF[c] (produs de celulele B)	?	?	Creștere marcată a numărului de celule B LY–1+ activate

[a]BCGF, B cell growth factor; BCDF, B cell differentiation factor. Răspunsul la acești factori variază în funcție de vârsta animalului, starea de activare celulară (celule B mici sau mari), subsetul de celule B(Lγ–1+ sau Lγ–1–), agentul utilizat pentru activare (LPS, anticorpi anti-μ sau altul) și condițiile experimentale.
[b]>>crescut; <<scăzut; N normal.
[c]BMF, B cell maturation factor.

În mod analog, autoanticorpii specifici pentru FcR pot constitui dacă nu o cauză, cel puțin un mecanism adjuvant suplimentar în diferite stări autoimune.

3. CELULELE Tγδ ȘI B CD5+: UN EFECTOR CELULAR MAJOR AL AUTOIMUNITĂȚII?

3.1. CELULELE γδ

Limfocitele T și B formează populații celulare heterogene ce exprimă markeri de suprafață specifici și funcții distincte; de exemplu, celulele T la șoarece, în funcție de compoziția TCR sunt αβ+și γδ+. Ambele tipuri de receptori sunt conectate la același sistem de transducție intracitoplasmatică (molecula CD3) și prezintă fenomenul de restricție MHC, o caracteristică fundamentală pentru celulele T, alături de self toleranță. Există însă deosebiri funcționale între cele două subseturi cât și în ce privește localizarea și distribuția în organism. Dacă celulele αβ recunosc în principal antigene nonself în contextul unor molecule MHC „clasice" polimorfe, TCRγδ leagă antigene prezentate de molecule MHC I „non clasice", cu un grad limitat sau absent de polimorfism (24). Dacă limfocitele TCRαβ se întâlnesc preponderent în sânge, celulele TCRγδ sunt predominant localizate în tegumente (celule dendritice epidermice (DEC), $CD4^{-}CD8^{-}$ dublu negative, limfocitele intestinale epiteliale (IEL), CD8+) și se pare că au rol în apărarea locală, prin liza unor invadatori străini (limfocitele mucoasei intestinale) sau a propriilor celule alterate (celule epidermice lezate prin expunerea la radiații ultraviolete) (25).

Bazele genetice ale diversității TCR sunt și ele distincte pentru cele două tipuri de receptori: expresia genelor Vα și Vβ este mult mai variată în comparație cu genele Vγ și Vδ, utilizate restrictiv. De exemplu, în IEL apare o utilizare preferențială a segmentului Vγ7 în timp ce DEC folosesc în special Vγ5. Rolul în autoimunitate al celulelor γδ este susținut de specificitatea acestora pentru autoantigene precum și de capacitatea acestora de a transfera boli imune experimentale în animalele acceptor. Înainte de a stabili rolul lor în autoimunitate sunt însă necesare încă multe investigații privind funcția lor normală.

3.2. CELULELE B CD5+(Ly–1)

În prezent se admite clasificarea celulelor B în două subseturi majore, pe baza expresiei antigenului CD5, un antigen comun celulelor T. Celulele B convenționale nu au acest antigen care este exprimat doar la o subpopulație minoră, evidențiată inițial la șoarece și apoi la om, ca subpopulație majoră în leucemia limfocitară cronică (CLL) și în anumite stări autoimune. Ambele seturi de limfocite B(CD5+, CD5–) derivă probabil din bursa omentală, ficatul fetal și măduva osoasă. Oricum, dacă celulele B convenționale sunt identificate în măduva adultă, precursorii celulelor B CD5+ dispar din măduva osoasă la organismul adult. Celulele B CD5+ au câteva particularități fenotipice, cum ar fi capacitatea de autoreînnoire și producția constitutivă de IgM. La șoarece, limfocitele B CD5+ sunt în principal acumulate în cavitățile peritoneală și pleurală. Această subpopulație este sensibil crescută numeric la anumite linii de șoarece cu predispoziție pentru stări autoimune. La șoarecii *me^v*, expuși unei autoimunități multisistematice, aproape toate celulele B sunt de fenotip CD5+, în timp ce la șoarecii NZB, cu predispoziție pentru un sindrom lupus-like și anemie hemolitică autoimună, acest subset este considerabil mărit. Prin contrast, în alte modele animale cum ar fi MRL *Ipr* și șoarecele TSK (Tight Skin Mice), celulele B CD5+ sunt normale din punct de vedere numeric.

Ipoteza că aceste celule sunt angrenate în patologia autoimună s-a datorat nu numai modelelor animale dar și unor cazuri concrete de boală autoimună la om. Exemple edificatoare sunt sindromul Sjögren, artrita reumatoidă și sclerodermа în care apar procente crescute ale limfocitelor B CD5. Destul de interesant însă, această subpopulație este semnificativ crescută și în schizofrenie, în patogeneza căreia nu s-a identificat vreo componentă autoimună.

Izolarea și analiza anticorpilor produși de celulele CD5, în special în CLL (26), a confirmat anumite supoziții, și anume că acești anticorpi sunt selfreactivi și polispecifici. Observația a fost un argument solid pentru a susține rolul important jucat de celulele CD5+ în autoimunitate. Oricum, reevaluarea critică a unor date experimentale a arătat că, deși apare o supraexpresie a acestei subpopulații în linii de șoarece predispuse la autoimunitate (NZB me^v), ea este aparent normală în alte linii, de asemenea cu susceptibilitate pentru fenomene autoreactive (MRL/lpr, TSK). De aici concluzia ce se impune și anume că, alți factori genetici, independenți de funcția celulelor CD5, controlează incidența stărilor autoimune. La om, deși subsetul CD5+ este marcat crescut în anumite boli de etiologie autoimună (Sjögren, artrita reumatoidă, sclerodermа), în alte boli autoimune „consacrate", cum ar fi lupusul eritematos sau alte boli autoreactive multisistemice, diabetul zaharat sau tiroidita autoimună, subpopulația B CD5+ este în limite normale.

Un argument în plus pentru a nu implica celulele CD5 în autoimunitate este natura anticorpilor secretați de aceste limfocite, care sunt de izotip μ, multispecifici, de joasă afinitate și un înalt grad de „conectivitate“ (în sensul formării unei rețele idiotip–antiidiotip, prin interacții multiple), în situsurile de leziune tisulară fiind detectați de cele mai multe ori anticorpi IgG de înaltă afinitate și specificitate și care sunt principalii responsabili pentru injuriile aduse țesutului. Geneza diversității Ig în celulele CD5+ prezintă și ea anumite caracteristici, atât la om cât și la șoarece. Astfel, se remarcă o preferință pentru expresia genelor, în catenele ușoare și o incidență redusă a comutării izotipului. De asemenea, celulele CD5 umane și murine utilizează secvențe V germline, ce nu au suferit o maturare a afinității prin mutații somatice (27). Aceste particularități sugerează încă o dată ca limfocitele CD5 nu participă la producția de autoanticorpi patogeni, deoarece, potrivit conceptului lui Burnet, susținut de fapte experimentale, acești anticorpi sunt codificați de gene supuse unor intense mutații somatice. Deși nu se poate trage o concluzie finală, se pare că self reactivitatea, atât organ-specifică cât și cea sistemică, se datorează totuși ambelor subtipuri de celule B. Există și aici o excepție, și anume anticorpii anti-bromelaina și anti-timocitari elaborați de celulele B Ly-1 de șoarece, cu specificitate mare pentru autoantigen, și autoanticorpii multispecifici secretați de celulele CD5+ umane, cu specificitate pentru țesuturile self, ce apar în anumite boli autoimune sau hemopatii maligne (CLL).

III. POSTULATE PENTRU A DEFINI O BOALĂ AUTOIMUNĂ

Imaginea și modul de înțelegere actual al sistemului imun consideră limfocitele self-reactive un constituent normal al organismului iar self-reactivitatea un aspect natural al funcționalității sale. Totuși, în anumite circumstanțe, această self-reactivitate poate iniția fenomenul autoimun iar anticorpii patogenici și celulele T autoreactive pot produce leziuni ale structurilor proprii, rezultatul fiind o boală autoimună. În aceste condiții pentru a nu se crea confuzii și pentru a putea delimita clar o patologie autoimună de o condiție asemănătoare, dar de altă etiologie, a fost necesară adoptarea unor postulate, a unor criterii, care să permită diferențierea autoanticorpilor și a

celulelor T self-reactive patogene de cele ce se integrează normal în fiziologia organismului. În 1991 (28) am propus patru postulate pentru caracterizarea autoanticorpilor patogenici și a clonelor T reactive la self și pentru a distinge o boală autoimună de o maladie care se poate însoți de self-reactivitate dar nu este autoimună *per se*.

1. CRITERII DE DEFINIRE A UNEI CONDIȚII AUTOIMUNE

Postulatul I

Identificarea autoantigenelor și demonstrarea proprietăților lor imunogene. Inițial autoanticorpii au fost utilizați în stare purificată pentru a identifica, izola și caracteriza autoantigenele prin metode imunochimice clasice. Mai târziu, biologia moleculară a permis clonarea genelor ce codifică anumite autoantigene. Pe această cale au fost identificate și izolate gene precum cele pentru antigenul Sm (Smith antigen) uman, implicat în translocația nucleară a U1–5 snRNA, histidyl–tRNA sintetaza, receptorul pentru acetilcolina, receptorul pentru insulină, toate incriminările în boli autoimune. Pornind de la secvența genică, au fost construite peptide ce au permis obținerea unor epitopi tridimensionali, cu semnificație antigenică. Majoritatea autoantigenelor fiind de origine proteică, glicoproteică sau lipoproteică, ele prezintă epitopi multipli. În această situație a fost important să se determine care porțiune din autoantigen are imunogenicitate maximă și este recunoscută de autoanticorpi sau în asociere cu molecula MHC de către celulele T (29). Folosirea peptidelor sintetice a simplificat foarte mult problema obținerii antigenelor reactive cu semnificație în autoimunitate, prin obținerea acestora în cantitate mare și posibilitatea unei imunizări eficiente.

Dacă acceptăm ideea că precursorii celulelor B producătoare de autoanticorpi patogeni sau ai celulelor T mediatoare ale stărilor autoimune sunt în mod normal anergizați (vezi Toleranța imunologică), atunci imunizarea cu autoantigene în anumite condiții poate anula starea de toleranță și permite dezvoltarea procesului self-agresiv.

Date actuale sugerează că imunizarea cu autoantigene poate induce producția de autoanticorpi sau expansiunea celulelor T răspunzătoare pentru stările autoimune cronice sau tranzitorii (30–32). Ar trebui oricum menționat

că în cazul celulelor T autoreactive proliferarea stimulată de antigen este dependentă de factori genetici: aceasta se demonstrează prin asocierea preferențială a peptidelor antigenice cu molecule codificate de anumite alele MHC. De exemplu, encefalită alergică experimentală (EAE) este produsă numai la șoareci ce au alelele $H\text{–}2^s$ sau $H\text{–}2^u$, deoarece peptidele generate prin procesarea proteinei bazice mieilinice (MBP) pot fi prezentate doar de moleculele $I\text{–}A^s$ sau $I\text{–}A^u$.

Postulatul II

Identificarea autoanticorpilor patogenici sau a celulelor T în situsul de leziune. Autoanticorpii patogeni pot fi eluați din organe țintă, cum ar fi anticorpii Coombs de pe eritrocitele bolnavilor de anemie hemolitică autoimună, sau anticorpii anti-membrana bazală din rinichii sau plămânii pacienților cu sindrom Goodpasture. Anticorpi fără specificitate de organ, cum ar fi anticorpii anti-DNA, au fost izolați din rinichii pacienților cu glomerulonefrita lupică. Similar, celule T autoreactive au fost obținute din leziunile de insulită de la șoarecii și șobolanii cu susceptibilitate pentru diabet.

În anumite boli, cum ar fi EAE sau scleroza multiplă, se dezvoltă limfocite T cu reactivitate pentru proteina bazică mieilinică. Izolate din organele limfoide, din leziunile nervos centrale și din corticosuprarenala animalelor, ele se caracterizează printr-o utilizare restrictivă a anumitor familii de gene Vβ și Vα (33–35). Astfel, probabil că în viitor vom asista la o aplicare tot mai largă a tehnicilor de biologie moleculară în identificarea clonelor de limfocite T self-reactive asociate leziunilor dintr-o boală autoimună.

Postulatul III

Inducerea simptomelor sau leziunilor caracteristice unei boli autoimune prin transferul pasiv al autoanticorpilor patogeni sau al celulelor T. Experimentele efectuate in vitro au indicat că anticorpii antieritrocitari de la pacienții cu anemie hemolitică autoimună pot liza eritrocitele subiecților normali iar celulele T obținute de la pacienții cu tiroidita autoimună sunt de asemenea capabile de a liza eritrocitele (36).

Capacitatea autoanticorpilor umani de a reproduce leziunile caracteristice de boală sau simptomele specifice maladiei autoimune la alte specii animale este dificil de studiat, deoarece anumite boli autoimune nu au echivalent la animale iar substratul genetic implicat diferă de la o specie la alta. Oricum, imunoglobulinele prelevate de la pacienți cu pemfigus, injectate la șoarece nou-născut, au indus leziuni tegumentare similare cu cele observate la om (37).

Cel mai bun exemplu care incriminează autoanticorpii patogeni în producerea leziunilor de natură autoimună, este declanșarea unor boli autoimune tranzitorii sau cronice la copii născuți din mame cu boli autoimune, consecutiv transferului transplacentar al autoanticorpilor. S-a demonstrat că

anticorpii anti-AchR pot induce simptome de miastenie, anticorpii anti-TSHR reproduc simptomele bolii Graves iar anticorpii anti-colagen II produc episoade inflamatorii recurente ale cartilajelor din întreg corpul la copii ale căror mame au miastenia gravis, boala Graves și respectiv, policondrita.

Există de asemenea modele experimentale de inducere a simptomelor sau leziunilor caracteristice unei stări autoimune prin administrarea pasivă de autoanticorpi. Astfel, injectarea de anticorpi monoclonali anti-AchR la șoareci, poate fi urmată de o anemie mortală. Purpura idiopatică trombocitopenică sau sinovita pot fi induse cu seruri ce conțin anticorpi anti-plachetari (38) sau anti-colagen tip II (39).

Cu toate acestea, nu există nici un exemplu de boală autoimună care să fie reprodusă prin transferul de celule T patogenice de la o specie la alta. Piedica principală o consituie reacția de rejet ce se dezvoltă împotriva celulelor donoare xenogenice și restricția MHC la care sunt supuse celulele T donoare. Depășirea acestor dificultăți a impus găsirea unui nou sistem experimental, reprezentat de șoarecele cu imunodeficiență severă combinată (SCID). Acesta poate dezvolta simptomele de boală în urma transplantului de celule mononucleare izolate din sângele pacienților cu maladii autoimune (40).

În contrast cu cele afirmate anterior, boli cum ar fi EAE, uveoretinita, insulita, orhita, nefrita, indusă de mercur sau neurita alergică experimentală, pot fi reproduse cu ușurință dacă se transferă celule T singenice patogene. Leziuni tegumentare specifice sclerodermei au fost generate prin transferul de limfocite tegumentare obținute de la șoarecele TSK (41).

Postulatul IV

Genele ce codifică autoanticorpii patogeni sau TCR, exprimate în animale transgenice, reproduc boala. Studiile care să susțină acest postulat sunt încă într-o fază timpurie. S-a observat la șoareci transgenici în care gena Vh obținută de la hibridom MRL/lpr ce exprimă anticorpi IgM anti-DNA, că mai mult de jumătate din celulele B transgenice sintetizează receptori cu specificitate anti-DNA (simplu sau dublu catenar). Aparent, celulele ce exprimă sIgM nu se diferențiază totuși în celule secretoare de anticorpi. Acest lucru nu este valabil pentru șoareci BALB/c transgenici ce exprimă regiunea V din IgG patogenice cu specificitate anti-DNA izolate de la șoareci BxWF1, la care s-au identificat o proteinurie marcată și azotemie, consecutiv unei glomerulonefrite lupice (42).

Cele patru postulate pot fi utilizate pentru a concepe experimente mai directe în vederea definirii autoanticorpilor patogenici și a celulelor T autoreactive.

Considerând postulatele lui Witebski (43) precum și postulatele formulate mai sus și plecând de la rezultatele obținute prin tehnicile de imunologie și biologie moleculară, se poate delimita mai ușor o boală autoimună de o stare patologică asemănătoare dar cu implicații imunologice secundare.

Aceste postulate ar putea fi utile nu numai pentru imunobiologi dar și pentru studenți și medici cu preocupare pentru entitățile autoimune, în vederea diagnosticului și a stabilirii unui tratament. Mai mult, criteriile enunțate evidențiază o serie de dovezi directe și indirecte pentru precizarea unei condiții cu substrat autoimun (tabelul 4).

Tabelul 4

Argument direct și indirecte pentru diagnosticul de boală autoimună

	Argument direct			Argument indirect						
Boala	Transferul bolii prin anticorpi.			Transfer prin celule la șoarece SCID	Inducerea bolii la animal prin antigen	Identificarea în leziune de celule		Transfer prin limfocite la animale experimentale	Modele genetice	Autoanticorpi sau celule T self-reactive
	Experimental	Maternal	La animale			T	B			
Organ specifică						X	X			
Miastenia gravis		X	X		X	X	X			X
Boala Graves		X		X		X	X	X		X
Tiroidita cronică				X				X	X	X
Diabetul insulinodependent								X	X	X
Anemia pernicioasă										X
Gastrita atrofică										
Boala Addison								X		X
Azoospermia					X					X
Policondrita		X						X		X
Uveoretinita					X					X
Pemphigus			X							X
Vitiligo										X
Ciroza biliară primitivă										
Scleroza multiplă					(X)	X		X		X
Miocardita					X			X		X
Anemia hemolitică autoimună							X	X	X	
Trombocitopenia idiopatică	X						X	X	X	
Sistemică										
Sindromul Goodpasture					X	X	X	X		X
Artrita reumatoidă							X		X	X
Sindromul Sjögren								X	X	X
SLE				X					X	X
Scleroderma				X					X	X
Polimiozita										X

2. ARGUMENTE DIRECTE ȘI INDIRECTE PENTRU DIAGNOSTICUL DE BOALĂ AUTOIMUNĂ

2.1. ARGUMENTE DIRECTE

O dovadă hotărâtoare pentru incriminarea unei stări autoimune este reproducerea acelei boli într-un subiect normal, prin transferul de celule T sau autoanticorpi. Evident, asemenea situații sunt rare, într-un experiment clasic, Harrington și-a injectat plasma provenind de la un pacient cu purpura trombocitopenică idiopatică, rezultatul fiind o depleție plachetară și o sângerare severă (44). Oricum, transferul deliberat de autoanticorpi patogeni nu poate fi efectuat la oameni, datorită înaltului risc pe care îl prezintă. Cu atât mai mult, nici un experiment cu transfer de celule T autoreactive ce inițiază stări autoimune nu a fost efectuat.

O soluție alternativă transferului interuman de autoanticorpi sau celule T autoreactive, este prelevarea acestora de la oameni și injectarea la animale de experiență și urmărirea similitudinii alterărilor tisulare induse cu cele întâlnite la om. Un asemenea transfer de autoimunitate a avut succes doar în câteva cazuri, când s-au obținut practic duplicate ale bolii umane. De exemplu, Ig izolate de la pacienți cu pemfigus au produs leziuni morfopatologice la șoarece similare cu cele de la om (vezi mai sus) (45). Analog, anticorpii anti-AchR umani, chiar dacă nu induc miastenie la șoarece, produc o pronunțată fatigabilitate musculară (46).

Există totuși și la om situații de transfer de autoreactivitate imună prin experiențe ale naturii, situație discutată anterior în legătură cu afecțiunile autoimune ale nou-născutului dintr-o mamă cu boala autoimună. În plus, se mai poate aminti un caz de bloc cardiac fetal la un copil dintr-o mamă suferindă de lupus; în acest caz alterările cardiace și sistemice par să fi fost produse de anticorpi anti-Ro (47).

O altă dovadă directă pentru a considera o boală de etiologie autoimună, este abilitatea autoanticorpilor specifici de a liza celulele țintă. De exemplu, autoanticorpii de la pacienții cu hemoglubinurie paroxistică la rece lizează atât celulele pacienților afectați cât și celulele subiecților ce exprimă alloantigenul corespunzător (48).

Identificarea celulelor T patogenice responsabile pentru anumite stări autoimune este mai dificilă din punct de vedere tehnic, datorită respingerii

țesuturilor xenogenice introduse în animale imunocompetente. Descoperirea modelului SCID a marcat o nouă etapă în experimentele de transfer în imunitate și a permis demonstrarea rolului patogen al celulelor T autoreactive injectate la animale imunodeficiente. Injectarea limfocitelor din sângele periferic uman de la pacient cu lupus la un șoarece imunodeficient, a produs un sindrom lupus-like (49). Într-un alt experiment, Volpé *et al.* a reprodus tiroidita prin implantarea de fragmente tiroidiene infiltrate cu limfocite sub capsula renală (50).

2.2. ARGUMENTE INDIRECTE

Dovezile indirecte pentru o boală autoimună sunt;

a. inducerea bolii la animale printr-un autoantigen corespunzător;

b. reproducerea bolii la modele animale experimentale;

c. modele genetice pentru boala autoimună;

d. detectarea autoanticorpilor patogenici sau a celulelor T în țesuturile lezate.

Până în prezent au existat mai multe încercări de a imuniza animale de laborator cu autoantigene în scopul reproducerii proceselor autodestructive ce caracterizează patologia autoimună umană. Limitarea majoră în obținerea unor modele eficiente este diversitatea de efecte rezultate după injectare, de la toleranță până la reacții extreme.

Un succes notabil a fost izolarea și caracterizarea epitopilor semnificativi din punct de vedere imunologic din structura autoantigenelor și sinteza artificială de peptide imunogene, recunoscute de celule T sau B. Câteva din aceste peptide, inserate în proteine carrier, au inițiat un răspuns imun puternic la animale injectate, ceea ce sugerează ca anumiți determinanți antigenici conservați din structura autoantigenelor sunt recunoscuți atât de imunoglobulinele umane cât și de cele animale. Acesta este cazul receptorului pentru acetilcolina, capabil să inducă miastenie gravis la modelul animal (51), și al topoizomerazei I (52), împotriva căreia au fost decelați anticorpi specifici la pacienți cu sclerodermă precum și la șoarecele TSK.

Alte încercări au fost mai puțin fructuoase, iar cauza eșecurilor este în primul rând datorată reactivității imune variabile la diferite specii și chiar la linii diferite de animale. Utilizarea adjuvanților în experimentele de imunizare interfera cu răspunsul imun declanșat de antigenul cu care se face imunizarea. Pe de altă parte, mecanismele de procesare ale antigenelor, codificate

genetic în mod particular la fiecare specie și chiar la indivizi din aceeași specie, fac imprevizibil rezultatul imunizării urmând injectării de peptide autoantigenice. Contextul molecular (MHC) în care epitopii imunogeni sunt prezentați celulelor T este un alt factor restrictiv în modelele de transfer antigenic la animale (53).

În aceste circumstanțe, doar patru cazuri de reproducere a bolii autoimune consecutiv injectării de autoantigen au fost serios documentate, servind și drept argumente indirecte pentru determinismul autoimun al maladiilor în cauză. Aceste boli sunt tiroidita, indusă de tiroglobulina (Tg), uveita, declanșată prin administrarea de antigen S, miastenia gravis (reprodusă de AchR) și orhita, produsă cu extracte crude de spermă.

Un exemplu mai puțin evident este modelul EAE, asemănător sclerozei multiple de la om. Proteina bazică mieilinică este antigenul ce inițiază expansiunea clonelor T autoreactive, dar cu toate acestea, nu s-a stabilit nici o relație cauzală între MBP și boala la om. În mod analog, colagenul II poate declanșa sinovita la animale, dar anticorpii împotriva acestui antigen nu sunt demonstrabil implicați în artrita reumatoidă.

Folosirea anticorpilor antiidiotip în experiențele de imunizare este o cale secundară atunci când antigenele pure nu sunt disponibile.

Pe lângă obținerea unor modele imunologice adecvate, cunoașterea mecanismelor autoimunității la om a câștigat considerabil de pe urma studiului unor linii de animale cu fenotip particular și care, în mod natural, prezintă susceptibilitate pentru stări autoreactive. Cel mai bun exemplu este șoarecele NZB în care apar anticorpi antieritrocitari și anemie hemolitia autoimună. Hibrizii F1 selecționați în urma încrucișării NZBxNZW dezvoltă spontan reacții autoimune sistemice, asemănătoare celor întâlnite în lupusul uman.

În alte modele genetice – șoarecii MRL/Ipr, gld și BXSB – s-au studiat lupusul și alte boli de țesut conjunctiv înrudite, în timp ce șoarecii TSK și găinile UDC 200 sunt predispuse la fibroză a pielii, histopatologic similară cu scleroderma. Tiroidita autoimună este o altă boală al cărei studiu se poate transpola la animale determinate genetic (găina OS și șobolanul BUF).

Deși multe din aspectele moleculare ale autoimunității sunt incerte și greu de obiectivat, progresele însemnate din ultimul timp permit definirea unui suport fundamental pentru această parte a imunopatologiei, care va avea efect pozitiv pentru diagnosticul și terapia stărilor autoimune. Oricum, autoimunitatea a fost și rămâne o zonă de interferență în care se întâlnesc capitole majore ale medicinei și biologiei, iar înțelegerea în detaliu a procesului autoimun va aduce în același timp o înțelegere aprofundată a evoluției și dezvoltării sistemului imun, a rolului acestuia în fenomene cum ar fi oncogeneza, îmbătrânirea, moartea celulară și senescența organismului.

BIBLIOGRAFIE

1. BURNET F.M.: *The clonal selection theory of ocquired immunity,* Cambridge Univ. Press, London, 1959.
2. GOODNOW C.C., ADELSTEIN S., BASTEN A., *Science,* **248,** 1373–1379, 1990.
3. NOSSAL G.J.V., *Ann. Rev. Immunol.,* 1:33–62, 1983.
4. GRABAR P., *Immunol. Today,* 4:337–340, 1983.
5. AVRAMEAS S., *Int. Rev. Immunol.,* **3**: 1–15, 1988.
6. COOMBS R.A.A., COOMBS A., INGRAM D.G.: *The serology of conglutinin and its relation to disease.* C.C. THOMAS 1961.
7. MADAIO M.P. et al., *J. Immunol.,* **137**: 2535–2540, 1986.
8. LIBLAU R. et al., *Eur. J. Immunol.,* **21**: 1391–1395, 1991.
9. GLIMCHER L.H., SHEVACH E.M., *J. Exp. Med.,* **156**: 640–645, 1982.
10. LONDEI M. et. al., *Proc Natl. Acad Sci. USA,* **86**: 8502–8506. 1989.
11. JERNE N.K., *Ann., Immunol. Inst. Pasteur,* **125**C: 373–389, 1974.
12. JERNE N.K., *Science,* **229**: 1057–1059, 1985.
13. NIEDERKORN J.Y., *Adv. Immunol.,* **48**: 191–226, 1990.
14. WUCHERPFENNIG K.W., WEINER H.L., HAFLER D.A., *Immunol. Today,* **12**: 277–282, 1991.
15. GAMMON G., SERCARZ E., BENICHOU G., *Immunol. Today,* **12**: 193–195, 1991.
16. OLDSTONE M.B.A., *Cell,* **50**:819–820, 1987.
17. BROWN G.D. et. al., *CRC Rev. Immunol,* **8**:175, 1988.
18. GOLDMAN H., DRUET P., GLEICHMANN E., *Immunol., Today,* **12**: 223–227, 1991.
19. JONES L.A. et. al., *J. Exp. Med.,* **172**: 1277–1285, 1989.
20. PULLEN A., MARRACK P., KAPPLER J.W., *Nature:* **335**: 796–801, 1988.
21. MacDONALD H.R., et. al., *Nature,* **332**: 40, 1988.
22. COHEN P.L., EISENBERG R.A., *Immunol.. Today,* **13**:427, 1992.
23. URBAN J.L. et. al., *Cell,* **54**: 577–592, 1988.
24. PAUL P. et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA, **84**:2872, 1987.
25. SRIVASTAVA R., LAMBERT M.E., in Ram B.P., HARRIS., TYLE P. (eds): *Immunology: Clinical Fundamental and Therapeutic Aspects* VCH New York, 99–136, 1990.
26. STHOEGER Z.M. et. al., *J. Exp. Med.,* **169**: 255, 1989.
27. MEEKER T.C. et. al., *J. Immunol.* **141**: 3994, 1989.
28. BONA C.A., *Autoimmunity,* **10**:169–172, 1991.
29. ZAMVIL S.S. et. al., *Nature* 32458, 1986.
30. LEHMAN D.H., WILSON C.B., DIXON T.J., *Kidney Int.,* **5**: 187, 1974.
31. ROSE N.R., WITABSKI E., *J. immunoll.,* **76**: 417, 1956.
32. THEOPHILOPOULOS A.N., DIXON F.J., Am. *J. Pathology,* **108**: 322, 1982.
33. ACHA–ORBEA H. et. al., *Cell,* **54**: 263, 1988.
34. BURNS F. et. al., *J. Exp. Med.* **169**: 27, 1989.
35. HAFLER D.A. et. al., *J. Exp. Med.,* **167**:1313, 1988.
36. McKENZIE W.A., DAVIES T.F., *Immunopathology,* **61**: 101–103, 1987.
37. ANHALT G.J. et. al., *N. England J. Medicine,* **306**: 1189, 1982.
38. MIZUTANI H. et. al., *Blood,* **75**: 1809, 1990.
39. STUART J.M., DIXON F.J., *J. Exp. Med.,* **158**: 378–392, 1983.
40. DUCHOSAL M.A. et. al., *J. Exp. Med.,* **172**: 985, 1990.
41. WALKER M.E. et. al., *Proc Soc. Exp. Biol. Med.,* **192**: 136, 1989.
42. HAHN R. et. al., *Cell Biochem. suppl.,* **15A**: 230, 1991.
43. WITEBSKI E. et. al., *J. Am. Med. Assoc.,* **164**: 1439–1447, 1957.
44. HARRINGTON W.J., et. al., *J. Lab Clin. Med.,* **115**: 636–645, 1990.
45. ANHALT G.J. et. al., *New Engl. J. Med.* **306**: 1189–1196, 1982.
46. GOMEZ C.M., RICHMAN D.P., *J. Immunol.,* **139**: 73–76, 1987.
47. ALSPAUGH M., MADDISON P. L., *Arthritis Rheum,* **22**:796–798, 1979.

48. DONATH J., LANSTEINER K., *Muench Med. Wochschr.*, **51**: 1590–1593, 1904.
49. DUCHOSAL M.A. et. al., *J. Exp. Med.*, **172**: 985–988, 1990.
50. VOLPÉ R. et. al., *Clin Immunol. and Immunopathol.*, **67**:93–99, 1993.
51. LENNON V.A., LAMBERTY G.H., *Nature*, **285**:238–240, 1980.
52. MURYOI T. et. al., *J. Exp. Med.*, **175**: 1103–1109, 1992.
53.TODD J.A. et. al., *Science*, **240**: 1003–1009, 1988.

CITOKINE

Conf. dr. DOINA DRUGĂRIN
Asist. univ. dr. LAVINIA NOVEANU

Disciplina de fiziologie
Universitatea
de Medicină şi Farmacie
Timişoara

ABREVIAR

IFN – INTERFERON
TNF – factor de necroză tumorală
TGF – factorul de transformare a creșterii
CSF – factor de stimulare a coloniilor celulare
GM–CSF – factor de stimulare a coloniilor celulare granulocitare și macrofagice
G–CSF – factor de stimulare a coloniilor celulare granulocitare
M–CSF – factor de stimulare a coloniilor celulare macrofagice
Multi-CSF – factor de stimulare multiplă a coloniilor celulare
R – receptor citokinic
Rs – receptor solubil
IL–1-ra – antagonistul receptorului interleukinei 1
FcR – receptor pentru fragmentul Fc al imunoglobulinelor
PK – proteinkinaze
PKC – proteinkinaza C
TK – tirozinkinaza
PLC – fosfolipaza C membranară
DAG – diacil-glicerol
IP3 – inozitol-trifosfat
NK – limfocite natural ucigașe
LGL – limfocite cu granulații mari
LAK – limfocite ucigașe stimulate de limfokine
PGE – prostaglandină E.

Citokinele sunt o familie de proteine-mediatori solubili ai imunității, inflamației, diferențierii și proliferării unor linii celulare precum și ai procesului de reparație tisulară, prin acțiune specifică asupra unor celule țintă (Cohen, Pick și Oppenheim, 1979).

Sunt molecule sintetizate și secretate de numeroase celule limfoide și nonlimfoide. Vechea denumire de limfokine și respectiv monokine, legată de sursa celulară limfocitară și mononuclear-fagocitară, a devenit improprie, pentru că diverse citokine sunt produse de ambele tipuri celulare (IL–1, TNF, IL–6, etc.). Noțiunea de interleukină este mai adecvată deoarece semnifică rolul acestor molecule ca mesageri interleucocitari.

S-au identificat 13 grupe de molecule care aparțin familiei interleukinelor, notate de la IL–1 la IL–13 în ordinea cronologică a descoperirii lor.

CARACTERISTICI BIOCHIMICE

Citokinele sunt proteine cu greutăți moleculare mici (15–25 kD), cu grad variabil de glicozilare și care se prezintă sub forma de monomer (IL–2, IL–3, IL–4) sau se pot constitui în dimeri asociați covalent (IL–5) și trimeri (TNF).

Prin metode sensibile de recombinare moleculară s-a reușit identificarea structurii tridimensionale a moleculelor cristaline: IL–1, IL–2, IL–6, TNF și GM–CSF. S-au identificat, de asemenea, mai multe gene codificatoare ale unor citokine și ale receptorilor. De exemplu, pe brațul lung al cromozomului 5 sunt grupate genele care codifică sinteza IL–3, IL–4, GM–CSF, M–CSF, IL–5, IL–9, precum și a receptorului M–CSF–R. Alte citokine și receptorii lor celulari sunt codificate de gene localizate pe cromozomii 2, 4 , 6, 7, 9, 10, 11, 12, 17, 21.

Unele citokine (IL–1, TGF–β) sunt proteine sintetizate sub formă de precursori care la nivelul reticolului endoplasmatic sunt scindați enzimatic și eliberează forma matură, activă, a moleculei. Secreția extracelulară a formei mature presupune activarea unor mecanisme de semnalizare intracelulară extrem de complexe.

Alte citokine sunt sintetizate ca molecule funcționale exprimate transmembranar, care prin clivaj enzimatic al segmentului extracelular eliberează forme solubile, circulante (M–CSF, TNF–α, TGF–α).

Producția de citokine este inițiată printr-o transcripție rapidă dar tranzitorie a genelor codificatoare.

EFECTE BIOLOGICE

Acțiunea citokinelor se exercită local prin efecte de tip *autocrin* (produsul de secreție influențează propria sursă celulară) și *paracrin* (produsul de secreție celulară influențează alte celule din apropiere) sau la distanță ca efect sistemic de tip endocrin. Citokinele produc o gamă variată de acțiuni asupra a numeroase tipuri de celule „țintă", care nu sunt de tip enzimatic și nici antigen-specifice dar coverg într-un efect final care implică intervenția unei „rețele de citokine". În cadrul acesteia, citokina produsă inițial induce producția în cascadă a altor citokine cu rolul de a amplifica sau inhiba acțiunea celei dintâi. Citokinele acționează în acest mod ca factori reglatori ai unor procese de tipul răspunsului imun și inflamator.

Familia de molecule denumită generic CITOKINE cuprinde:

INTERLEUKINELE: IL–1α, IL–1β, IL–lra, IL–2, IL–3, IL–4, IL–5, IL–6, IL–7, grupul IL–8, IL–9, IL–10, IL–11, IL–12 și IL–13.

FACTORII DE NECROZĂ TUMORALĂ: TNFα și TNFβ

FACTORII DE STIMULARE A COLONIILOR CELULARE: GM–CSF, G–CSF, M–CSF, eritropoetină (EPO)

FACTORII CHEMOTACTICI:

– *chemokine* α*:* grupul IL–8, factorul 4 trombocitar proteină activatoare a neutrofilelor

– *chemokine* β*:* proteinele chemoatractante ale monocitelor

FACTORII DE CREȘTERE: factorul de transformare al creșterii (TGF), factorul de creștere al fibroblastului, factorul de creștere derivat din trombocite, factorul de creștere epidermal, factorul de creștere al nervului.

RECEPTORI

Receptorii citokinici sunt proteine membranare care leagă cu afinitate înaltă cantități mici de citokine dar suficiente pentru inducerea efectului biologic. Constantele de afinitate (Kd) ale receptorilor sunt cuprinse între 10^{-10} și 10^{-12} M.

Receptorii pentru citokine sunt prezenți într-un număr redus pe suprafața celulelor „țintă" aflate în repaus (100–1000/celulă) dar numărul lor crește considerabil în urma activării celulare (densitatea receptorului IL–2–R pe celule T activate crește la 50 000/celulă).

Segmentul extracelular al acestor receptorii este organizat în domenii cu o structură heterogenă care participă la formarea situsului de fixare a citokinei specifice.

Segmentul intracelular are un rol funcțional esențial în mecanismele de semnalizare prin activarea căilor metabolice producătoare de mesageri secundari precum și a sistemelor enzimatice intracelulare.

Prin fixarea ligandului de receptor se formează un complex structural care suferă apoi procesul numit „internalizare".

Receptorul poate fi reexprimat pe suprafața celulară după câteva ore dar persistența sa este tranzitorie (ore sau zile) dependentă de prezența stimulului inductor al producției citokinei specifice.

Unii receptori prezintă forme solubile, circulante, rezultate prin proteoliza enzimatică a segmentului extracelular a formei membranare (IL–2–Rs, IL–5–Rs, IL–6,–Rs, etc.). Alți receptori solubili reprezintă proteine rezultate din îmbibarea diferențiată a ARN–m format prin transcripția genelor care codifică sinteza receptorilor citokinici (IL–4-Rs, IL–7–Rs etc.) (fig.2).

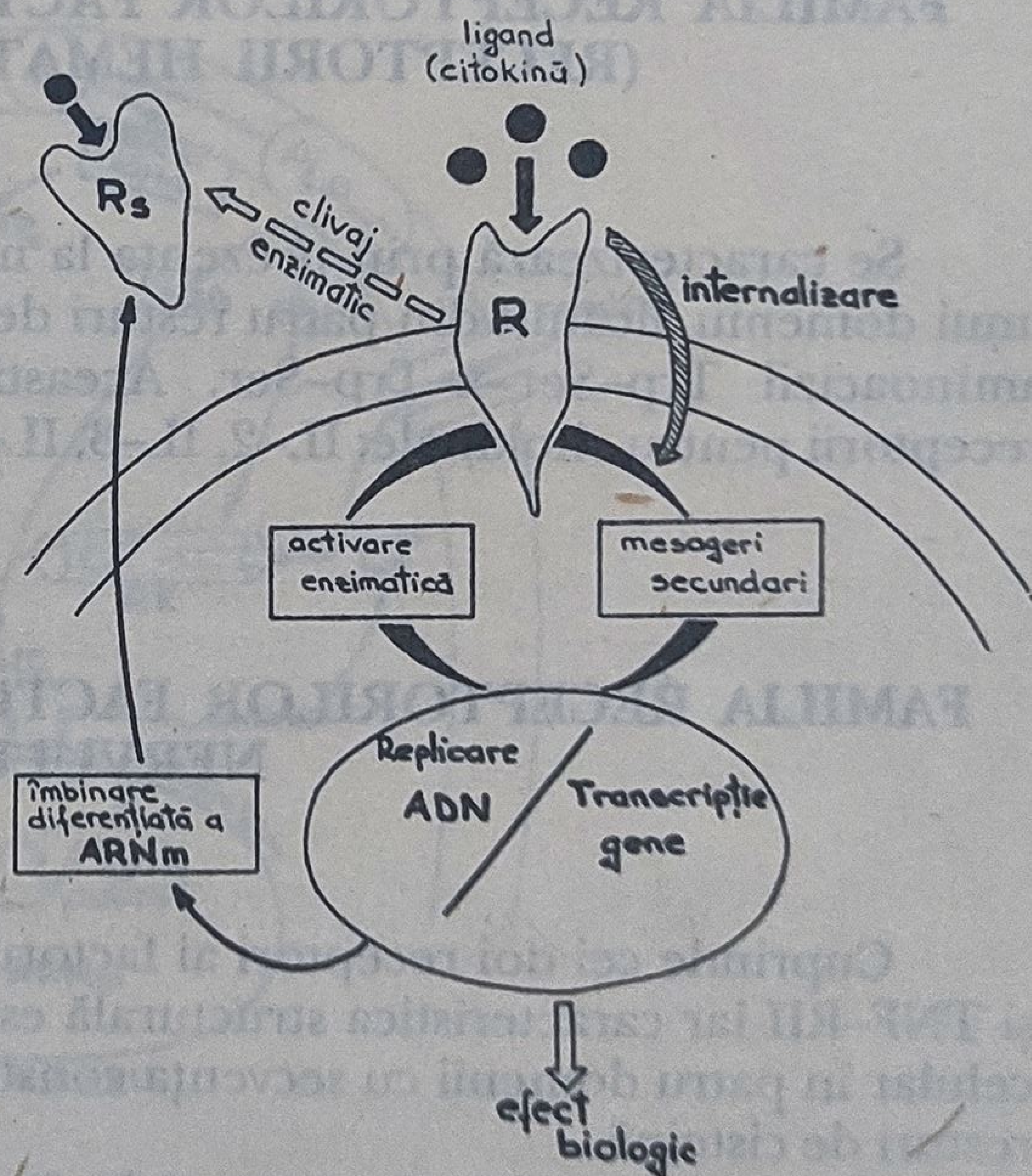


Fig. 2. Mecanisme de formare a receptorului solubil.

Receptorii solubili au rolul de inhibitori ai acţiunilor biologice mediate de citokine. Prin fixarea citokinelor circulante receptorii solubili împiedică acţiunea acestora asupra receptorilor membranari.

Din punct de vedere structural receptorii pentru citokine au fost clasificaţi în următoarele familii:

FAMILIA RECEPTORILOR SUPERFAMILIEI DE IMUNOGLOBULINE

Aceşti receptori sunt codificaţi de gene care fac parte din superfamilia genelor imunoglobulinice. Segmentul extracelular este organizat în domenii cu structura imunoglobulinică.

Din această familie fac parte receptorul G–CSF–R, cele două tipuri de receptori IL–1–R şi receptorul IL–6–R.

FAMILIA RECEPTORILOR FACTORILOR DE CREŞTERE (RECEPTORII HEMATOPOETINICI)

Se caracterizează prin prezenţa la nivelul segmentului extracelular a unui domeniu alcătuit din patru resturi de cisteină precum şi a secvenţei de aminoacizii Trp–Ser–x–Trp–Ser. Această familie este reprezentată de receptorii pentru citokinele: IL–2, IL–3, IL–4, IL–5, IL–7, şi G–CSF.

FAMILIA RECEPTORILOR FACTORULUI DE CREŞTERE A NERVULUI

Cuprinde cei doi receptori ai factorului de necroză tumorală: TNF–RI şi TNF–RII iar caracteristica structurală este organizarea segmentului extracelular în patru domenii cu secvenţa constantă reprezentată fiecare de patru resturi de cisteină.

Aceşti receptori pot „agrega" în forme trimerice sau oligomerice cu afinitate de fixare a liganului mult mai mare decât forma monomerică.

FAMILIA RECEPTORILOR TIROZIN-KINAZICI

Receptorii care fac parte din această familie prezintă la nivelul segmentului extracelular două domenii care conțin fiecare mai mult de 20 de resturi de cisteină. Segmentul intracelular este organizat într-un domeniu bogat în lizină și un al doilea domeniu care conține secvența de aminoacizi Gly–x–Gly–x–x–Gly.

Prototipul acestei familii este receptorul factorului de creștere epidermal (EGF) dar organizarea similară a segmentului intracelular este prezentă și la receptorul M–CSF–R.

MECANISME DE SEMNALIZARE INTRACELULARĂ

Ocuparea situsului de fixare a ligandului de către citokina specifică induce activarea receptorului, tradusă fie prin „internalizarea" acestuia, fie prin modificări conformaționale ale segmentului intracelular.

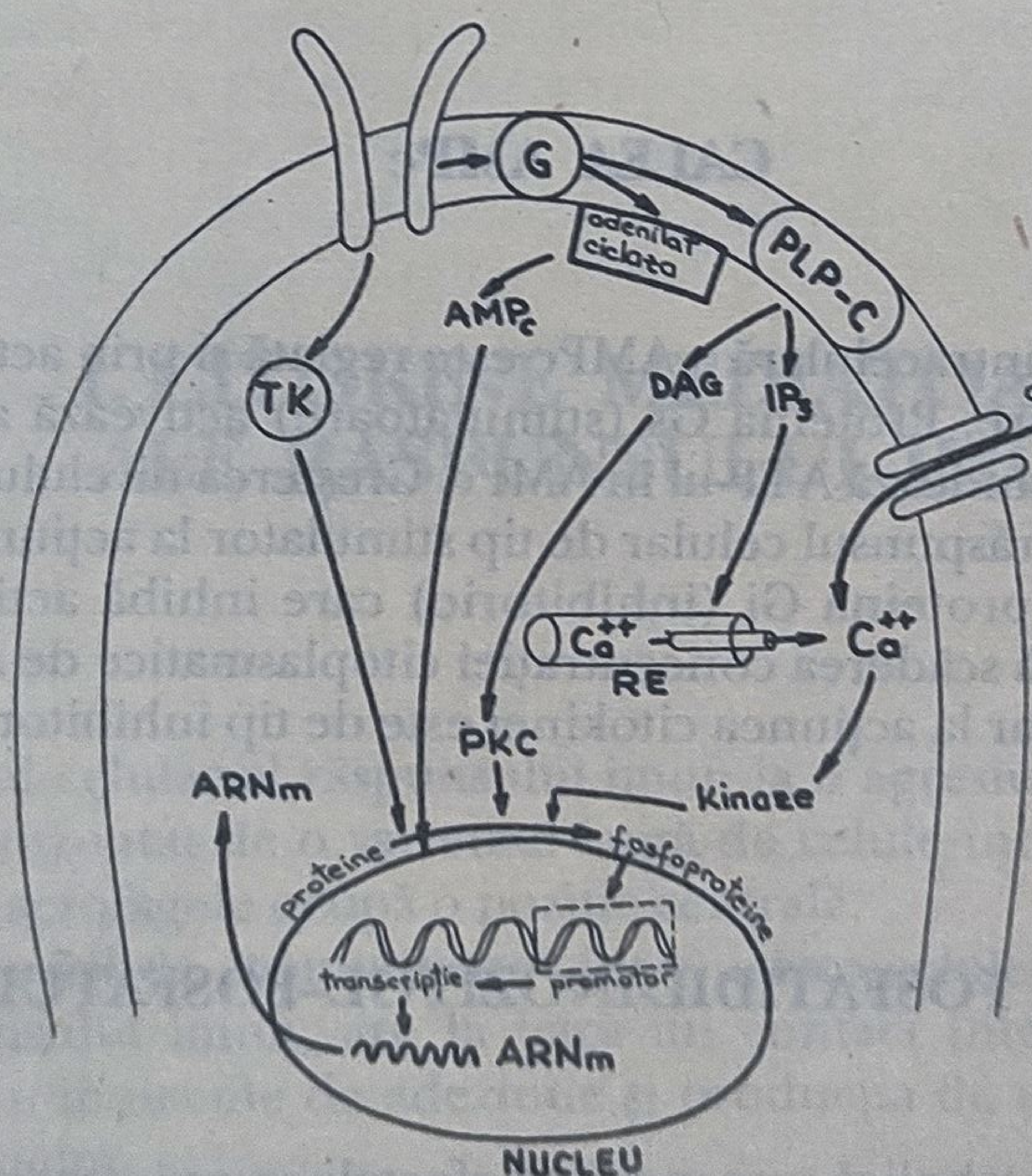


Fig. 3. Mecanisme de semnalizare intracelulară.

Aceste procese sunt urmate de activarea unor enzime intracelulare cum sunt proteinkinazele, ardenilat-ciclaza, fosfolipaza C membranară.

Unele enzime sunt situate pe suprafaţa internă a membranei celulare şi intră în structura receptorului. În cadrul acestuia suprafaţa internă, catalitică, este cuplată cu suprafaţa externă, receptoare, prin intermediul unor proteine membranare specializate.

Semnificativ în acest sens este sistemul proteinelor membranare G (GTP-dependente) care modulează activitatea enzimei cuplată la receptorul citokinic.

Activarea enzimatică se traduce prin stimularea unor căi metabolice producătoare de mesageri secundari: Ca^{++}, AMPc, DAG, IP3 care la rândul lor pot activa alte sisteme enzimatice intracelulare (fig. 3).

Cel mai important sistem enzimatic cu rol în mecanismul de semnalizarea al acestor receptori este sistemul proteinkinazelor, putând fi menţionate tirozin-kinaza, serin-treonin-kinaza, proteinkinaza C.

Proteinkinazele sunt enzime cu rol în fosforilarea unor proteine intracelulare care controlează expresia unui număr mare de gene codificatoare de molecule biologic active.

CALEA AMPc

Concentraţia intracelulară a AMPc este reglată şi prin activitatea proteinelor G membranare. Proteina Gs (stimulatoare) activează adenilatciclază membranară care scindează ATP-ul în AMPc. Creşterea nivelului citoplasmatic al AMPc „mediază" răspunsul celular de tip stimulator la acţiunea citokinei.

Se descrie şi proteina Gi (inhibitorie) care inhibă activitatea acestei enzime şi determină scăderea concentraţiei citoplasmatice de AMPc. În acest caz, răspunsul celular la acţiunea citokinei este de tip inhibitor.

CALEA FOSFATIDIL-INOZITOL–FOSFATULUI

Este o cale metabolică care mediază efectele stimulatoare ale citokinelor asupra celulelor „ţintă". Traducerea semnalului pe calea proteinelor G induce activarea fosfolipazei C membranare, care transformă inozitol -4-5-difosfatul, în diacil-glicerol (DAG) şi inozitol-trifosfat (IP-3). Inozitol-trifosfatul mobili-

zează ionii de calciu din reticolul sarcoplasmatic care activează sistemul proteinkinazelor.

La rândul său, diacil glicerolul poate activa proteinkinaza C.

Încercăm să descriem principalele citokine pe baza tipurilor de efecte biologice predominante asupra celulelor „țintă", și anume:

I. CITOKINE MEDIATOARE ALE RĂSPUNSULUI IMUN

II. CITOKINE MEDIATOARE ALE RĂSPUNSULUI INFLAMATOR

III. CITOKINE REGLATOARE ALE HEMATOPOEZEI

Discutarea efectelor biologice ale acestor citokine, care formează „rețeaua de mediatori solubili" între celulele liniilor mieloide, limfocitară și alte linii celulare, se va face într-o manieră care să evidențieze caracterul pleiotrop al acestor efecte. Acesta poate fi caracterizat prin următoarele afirmații:

– o singură citokină poate interacționa cu mai mult de un tip celular;
– o singură citokină are multiple efecte biologice;
– o singură celulă poate interacționa cu mai mult decât o citokină;
– mai multe citokine au efecte biologice care se suprapun;
– aceeași citokină poate acționa ca semnal pozitiv sau negativ în funcție de natura celulei „țintă".

I. CITOKINE MEDIATOARE ALE RĂSPUNSULUI IMUN

Suportul celular al răspunsului imun la o agresiune de natură antigenică este reprezentat de o varietate largă de celule între care populația de limfocite și macrofagele ocupă o poziție centrală.

Mecanismul de „comunicare" între aceste celule, esențial pentru eficiența răspunsului imun, are la bază un contact intercelular permanent „susținut" prin molecule de adeziune și producția de mesageri solubili din familia citokinelor.

Citokinele mediatoare ale răspunsului imun sunt produse de un număr limitat de tipuri celulare: limfocite T, macrofage, limfocite B, celule NK. Sursa celulară principală rămâne limfocitul T helper care funcționează ca „mașină

de tradus semnalul antigenic specific" în semnal stimulator al sintezei „reţelei de citokine" cu efecte biologice multiple asupra celulelor imunocomponente.

Aceste citokine exercită asupra sistemului imun două mari tipuri de efecte: imunostimulator şi/sau imunosupresor. Totuşi, nu se poate face o clasificare riguroasă a acestor citokine pe baza tipului de efecte biologice, pentru ca aceeaşi citokină poate acţiona ca imunostimulator pe o anumită populaţie celulară şi ca imunosupresor asupra altei populaţii de celule imunocompetente.

În acest sens, poate fi exemplificată IL–10 care are efect imunosupresor prin inhibiţia funcţiei macrofagului de celulă prezentatoare de antigen şi în acelaşi timp efect imunostimulator asupra populaţiei de limfocite T citotoxice şi limfocite B.

La cele două extremităţi ale gamei de efecte biologice imunomodulatorii se află IL–2 ca imunostimulator principal şi TGFβ care prin inhibarea creşterii celulare reprezintă un important imunosupresor.

Mai pot fi amintite efectele imunomodulatorii ale citokinelor: IL–1, IL–6, IL–9, TNF, IFN, care alături de IL–2 stimulează diferenţierea proliferarea şi activarea celulelor imunocomponente.

Interleukinele 12, 4 şi 10 au rol deosebit în reglarea diferenţierii populaţiei de limfocite THO (TCD_4^+, „virgine" sau „naive") în două subpopulaţii de limfocite TH1 şi TH2.

IL–12 favorizează diferenţierea subpopulaţiei TH1 care produce alte citokine implicate în medierea răspunsului imun celular şi anume IFN–γ şi IL–2. IL–4 şi IL–10 favorizează diferenţierea subpopulaţiei TH2 care produce IL–5, IL–6 precum şi IL–4 şi IL–10, citokine care participă la răspunsul imun umoral (fig. 4).

Vor fi prezentate în continuare interleukinele 2, 4, 10, 12, factorul de transformare a creşterii (TGF) şi interferonii (IFN) ca principale citokine implicate în medierea şi modularea răspunsului imun.

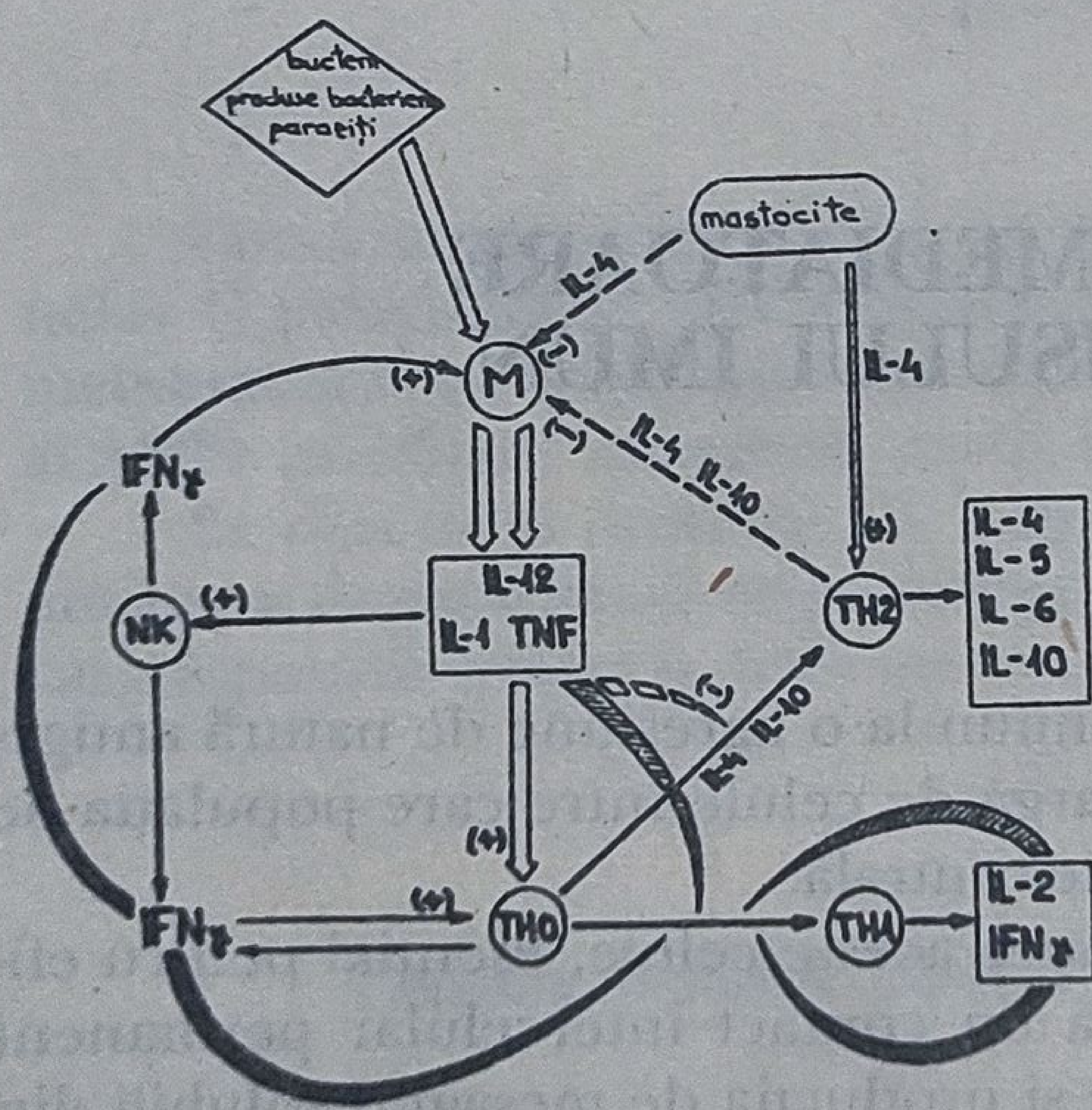


Fig. 4. Citokine implicate în diferenţierea populaţiei THO.

INTERLEUKINA 2

Interleukina 2 (IL-2) a fost numită inițial „factorul de măturare al celulelor T" dar în urma cercetărilor efectuate au fost identificate multiplele sale efecte și asupra altor celule.

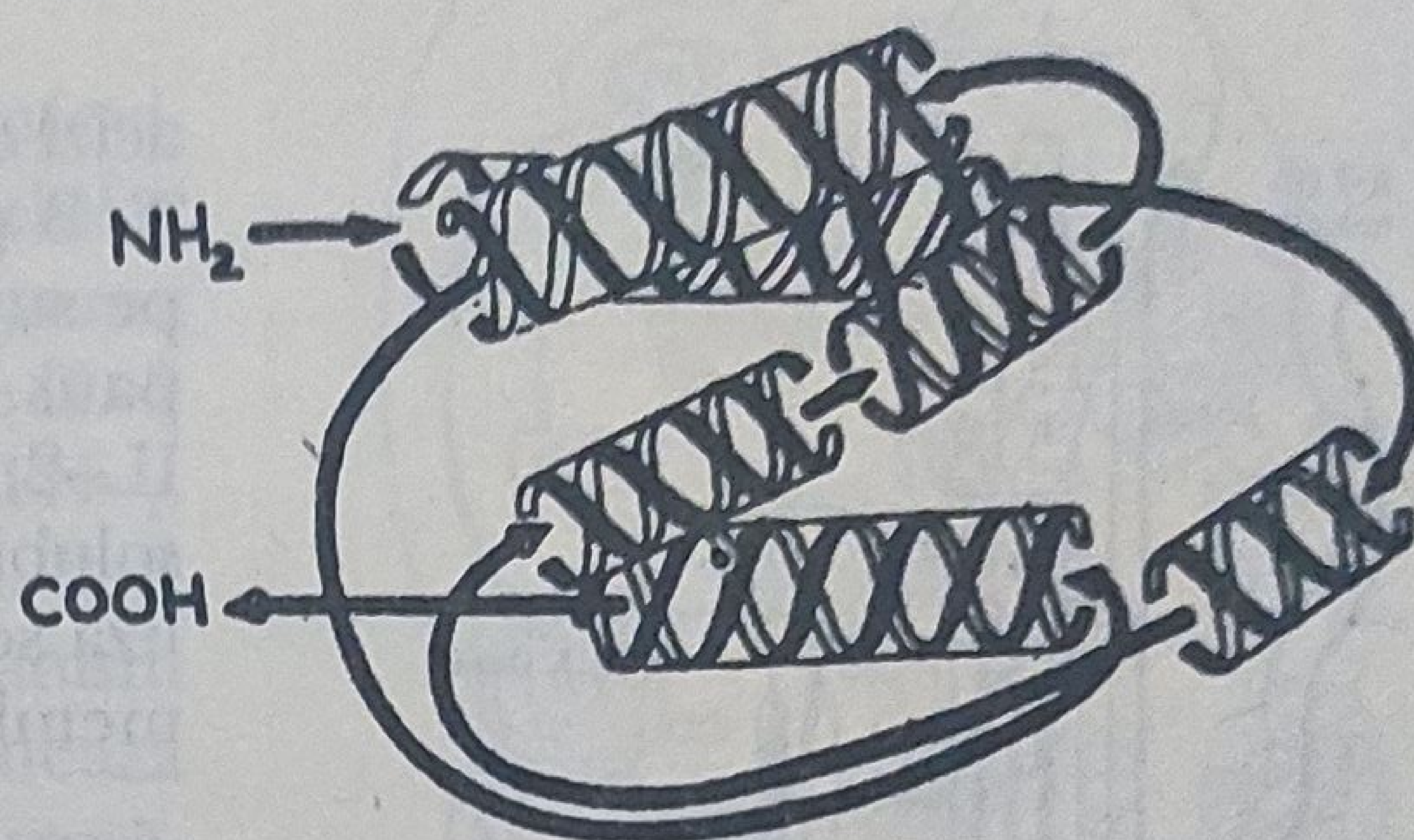


Fig. 5. Forma cristalină a IL-2.

STRUCTURA MOLECULARĂ

IL–2 este un monomer glicoproteic de 15,5 kD, constituit din 133 aminoacizi și prezintă o punte disulfurică intramoleculară. Primii 20 aminoacizi ai capătului amino terminal reprezintă „secvența de semnalizare" .

Forma cristalină are configurația rezultată prin dispunerea lanțului polipeptidic în alfa-helixuri antiparalele fără structuri beta-plicaturate secundar (fig. 5).

Lanțul polipeptidic al IL–2 are grade diferite de glicozilare dar componenta glucidică nu are rol biologic.

Sinteza IL–2 este codificată de o genă situată pe cromozomul 4.

RECEPTORUL PENTRU IL–2

Receptorul interleukinei–2 (IL–2–R) este un trimer alcătuit din trei subunități α, β, și γ, organizate după modelul complexului receptor multiunitar. Conform acestui model, fiecare subunitate poate îndeplini singură funcția de receptor pentru IL–2, dar afinitatea pentru ligand este mai mare pentru forma trimerică decât pentru forma monomerică a receptorului.

Se descriu, astfel, următorii receptori pentru IL–2, IL–2–Rα, IL–2–Rβ, IL–2–Rγ și IL–2–Rα/β/γ complex de înaltă afinitate (fig. 6).

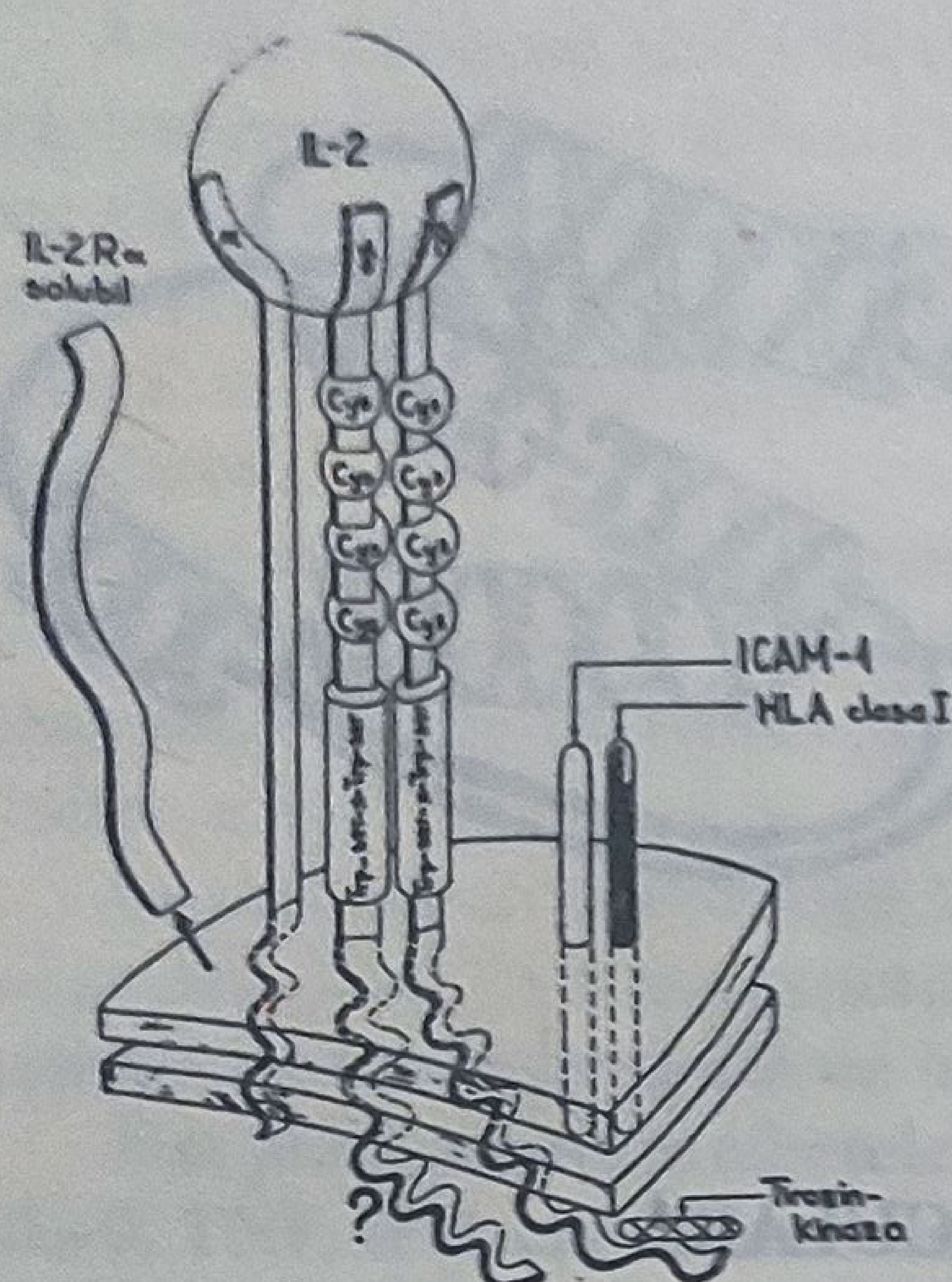


Fig. 6. Receptorul IL–2–R.

Fiecare subunitate este reprezentată de un lanț polipeptidic glicozilat codificat de gene situate pe cromozomul 10.

IL–2–Rα de 55 kD și 215 aminoacizi este exprimat numai pe limfocitele T, B și celule NK activate și lipsește de pe suprafață acestor celule aflate în repaus. Are afinitate scăzută pentru IL–2, de 10^{-8} M și prezintă o formă solubilă (IL–2–Rs) rezultată prin proteoliza segmentului extracelular a formei membranare.

Creșterea expresiei IL–2–R pe limfocitele în repaus, cât și a nivelului plasmatic al IL–2-Rs, corespunde unor situații patologice cum ar fi unele leucemii, rejetul de grefă sau unele boli autoimune.

IL-2-Rβ, de 75 kD și 513 aminoacizi are afinitate intermediară pentru IL-2, de 10^{-9}M iar segmentul extracelular este organizat în două domenii. Primul domeniu este alcătuit din patru resturi de cisteină iar al doilea domeniu este reprezentat de secvența Trp–Ser–x–Trp–Ser.

TAKESHITA și colaboratorii au identificat în anul 1992 și cea de-a treia subunitate γ. Acesta are 64 kD, iar organizarea structurală și afinitatea pentru ligand sunt similare subunității β. Subunitatea γ are rolul de a favoriza fixarea ligandului de subunitatea β și de a participa la traducerea semnalului intracelular. IL–2–Rβ și γ se găsesc exprimați pe limfocitele cu granulații mari (LGL).

Forma trimerică a IL–2–R rezultă prin atașarea covalentă a celor 3 subunități într-un complex care fixează IL–2 cu afinitatea cea mai mare, (10^{-11} M). IL–2–R are adiționate molecule de adeziune ICAM–1 precum și molecule HLA clasa I.

Mecanismele de semnalizare intracelulară sunt reprezentate de activarea tirozinkinazei și a proteinkinazei C.

SURSE CELULARE

Celulele care produc IL–2 sunt limfocitele T antigen activate CD_4^+ și în mai mică măsură CD_8^+. Producția de IL–2 este tranzitorie fiind maximă de 6–8 ore după expunerea la antigen; scade în decurs de 12 ore și dispare complet în absența antigenului.

EFECTE BIOLOGICE

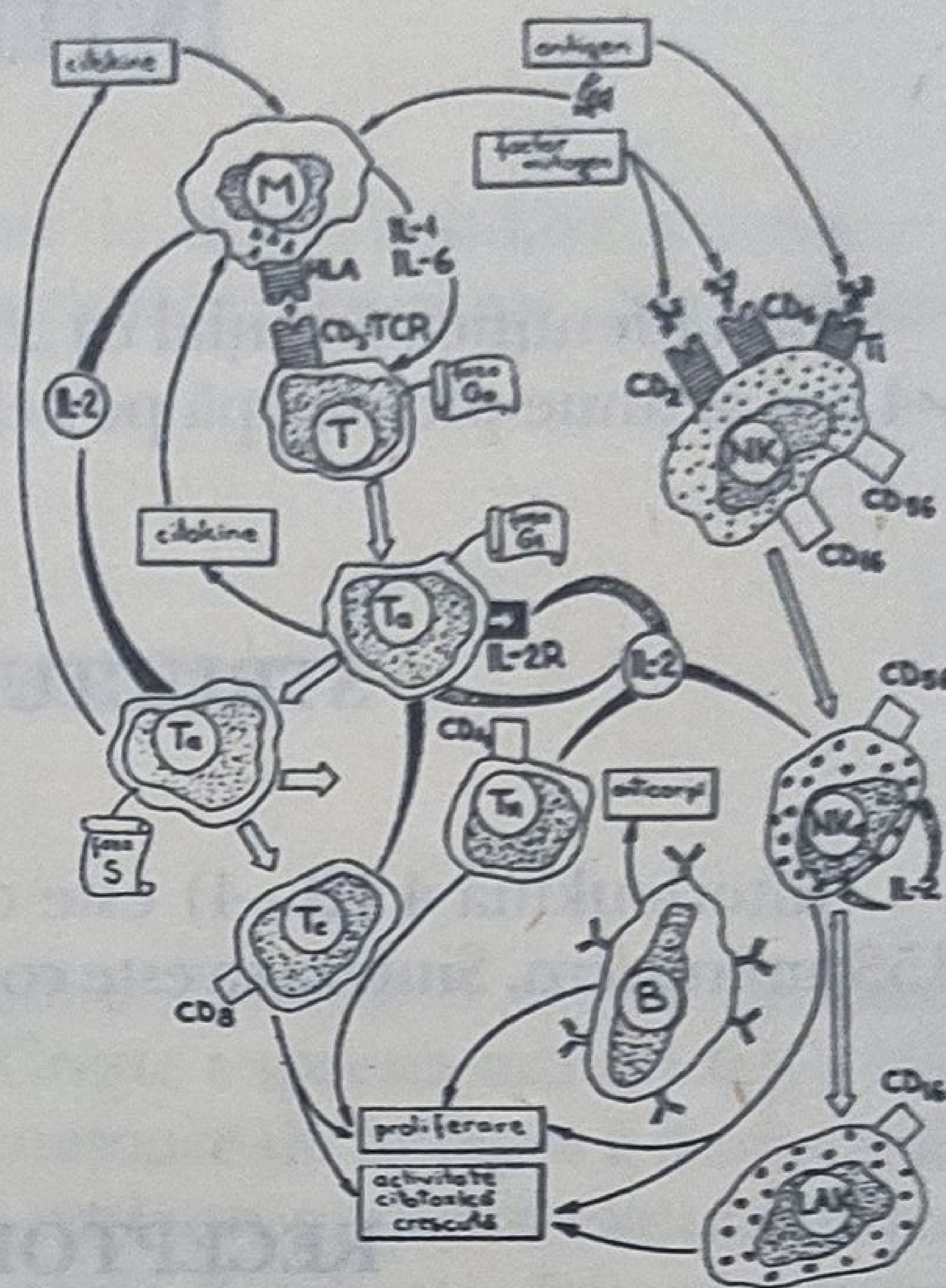


Fig. 7. Efectele biologice ale IL–2.

În prezența antigenului, limfocitele T trec din faza G0 a ciclului celular în faza G1 caracterizată prin creșterea expresiei IL–2–R și a producției de IL–2 dar și de IL–1, IL–4, IL–6, TNF și IFN–γ. IL–2 produsă acționează asupra IL–2–R de pe limfocitele T, printr-un mecanism de acțiune de tip autocrin și stimulează trecerea acestei celule în faza următoare a ciclului celular și anume în faza S. În această fază limfocitele T proliferează intens și produc IL–3, IL–4, IL–5, GM–CSF, IFN–γ.

Efectele de tip paracrin ale IL–2 se manifestă asupra limfocitelor B, celulelor NK și în mai mică măsură asupra macrofagului (fig.7.)

Limfocite T helper

IL–2 stimulează proliferarea limfocitelor CD_4^+ activate și consecutiv producția de citokine a acestor celule.

Limfocite T citotoxice

IL–2 induce proliferarea, producția de citokine și crește activitatea citotoxică a limfocitelor TCD_8^+ activate.

Celule NK și LGL

IL–2 stimulează proliferarea și diferențierea celulelor NK și LGL într-o populație de limfocite cu capacitate citotoxică crescută (LAK). Stimulează producția de TNFα și IFNα a populației de limfocite cu funcție citotoxică.

Limfocite B

IL–2 determină activarea limfocitelor B prin intermediul receptorilor de înaltă afinitate exprimați de acestea stimulează proliferarea și producția de anticorpi fără a influența comutarea izotipului de imunoglobuline secretate.

Macrofage

Prin fixarea pe IL–2–R de pe macrofag, determină creșterea capacității citotoxice a macrofagului față de celulele tumorale.

INTERLEUKINA 4

Deși identificată inițial ca „factorul de creștere al celulelor B (BCGF–1), IL–4 are acțiune pleiotropă pe celule limfoide și nonlimfoide.

STRUCTURA MOLECULARĂ

Interleukina 4 (IL–4) este o proteină glicozilată, monomeră, de 20 kD și 153 aminoacizi. Sinteza sa este codificată de o genă situată pe cromozomul 5.

RECEPTORUL PENTRU IL–4

Receptorul interleukinei 4 (IL–4–R) are o largă distribuție celulară pe limfocitele T și B, monocite/macrofage, granulocite, celule NK, fibroblaști, celule endoteliale. Densitatea pe suprafața acestor celule variază între 100 și 5000 receptori/celulă dar aceasta crește în cursul activării celulare. Afinitatea pentru IL–4 variază între 0,05–1 nM.

IL–4–R este o proteină membranară de 140 kD cu segmentul extracelular organizat în domenii bogate în cisteină, triptofan și serină (fig. 8.). Segmentul intracelular care cuprinde 533 aminoacizi este bogat în prolină și serină și are rol în mecanismul de semnalizare intracelulară.

Există și o formă solubilă (IL–4–Rs) de 40 kD care rezultă din imbinarea diferențiată a ARN–m.

Mecanismul de semnalizare intracelulară este reprezentat de activarea tirozinkinazei.

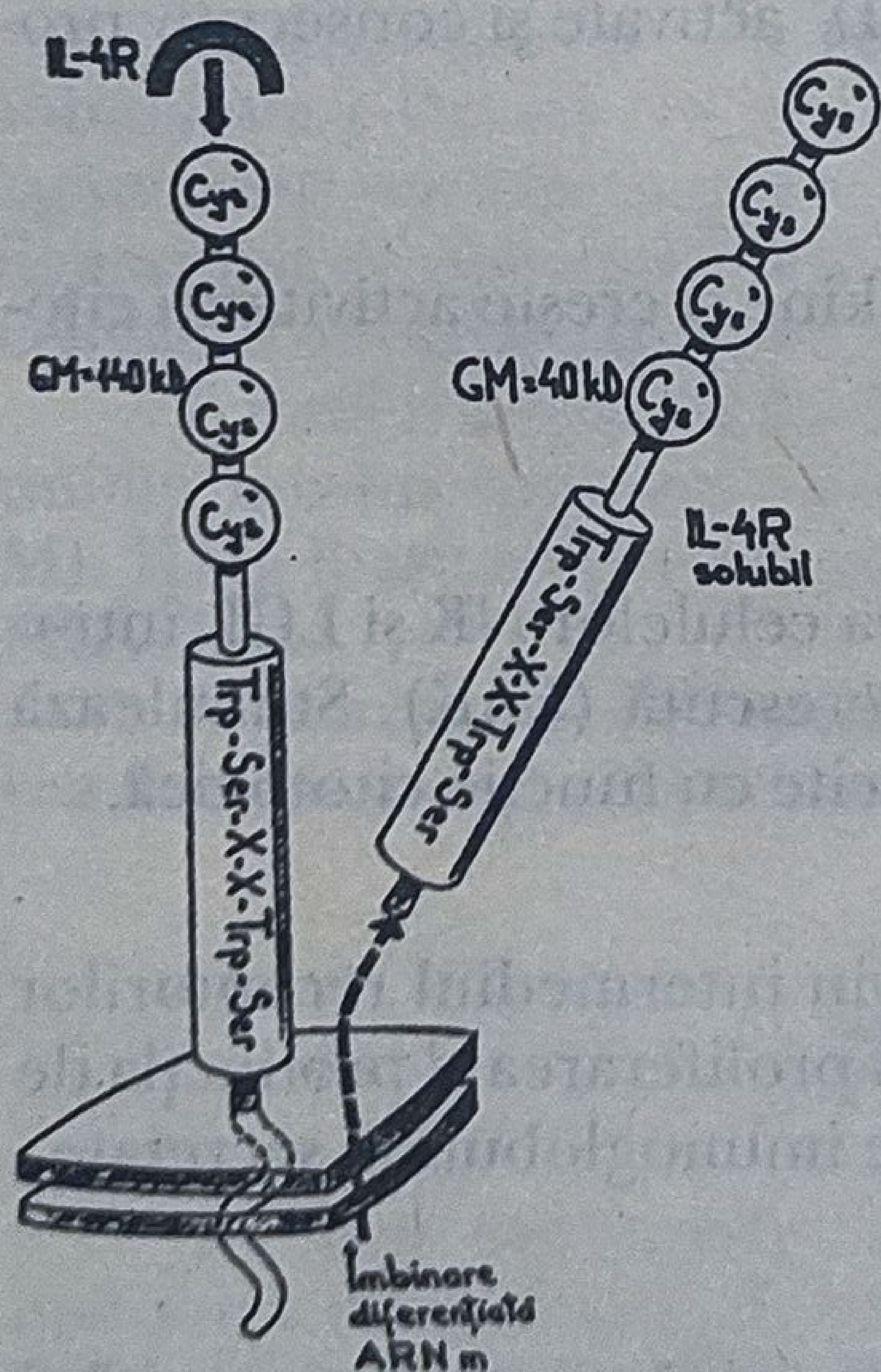


Fig. 8. Receptorul IL–4–R.

SURSE CELULARE

IL–4 este produsă de un număr limitat de tipuri celulare și anume de limfocitele TH2, bazofile/mastocite și celulele stromale ale măduvei hematogene.

EFECTE BIOLOGICE

Limfocite B

IL–4 este factor comitogen al limfocitelor B–antigen activate și stimulează dezvoltarea acestei populații celulare. Crește expresia moleculelor HLA clasa II și stimulează funcția de celulă prezentatoare de antigen a limfocitului B către limfocitul T helper. IL–4 este factor reglator major al expresiei izotipului de imunoglobuline produse de limfocitele B activate. Stimulează producția de IgG1 și IgE dar scade producția de IgG2 și IgG3 prin comutarea

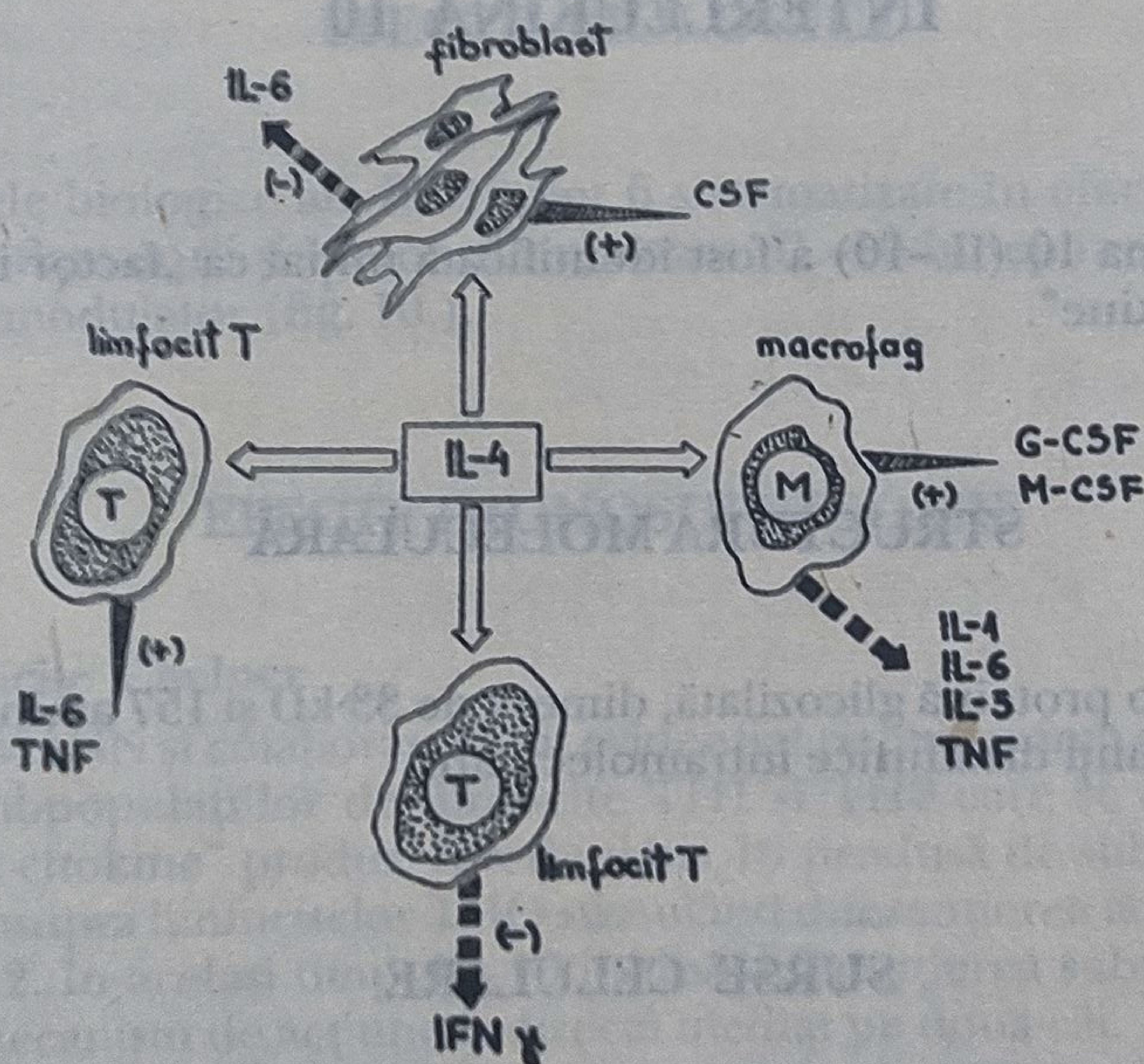


Fig. 9.

izotipului la genele $C_{\gamma-1}$ și C_{ε} . De asemenea crește expresia $Fc_{\varepsilon}R$ (CD2) de pe limfocitele B.

Limfocite T

IL–4 este factor comitogen pentru timocite; acționează direct pe limfocitele THO favorizând diferențierea acestora spre fenotipul TH2.

Macrofage

IL–4 activează macrofagele în sensul stimulării capacității citotoxice dar și a funcției de prezentare a antigenului. Crește expresia moleculelor HLA clasa II pe suprafața celulară.

Mastocite

Această citokină induce proliferarea și dezvoltarea liniei celulare mastocitare.

IL–4 este un factor reglator al producției altor citokine de către celulele „țintă" (fig. 9).

INTERLEUKINĂ 10

Interleukina 10 (IL–10) a fost identificată inițial ca „factor inhibitor al secreției de citokine".

STRUCTURA MOLECULARĂ

Il–10 este o proteină glicozilată, dimeră de 33 kD și 157 aminoacizi care prezintă două punți disulfurice intramoleculare.

SURSE CELULARE

IL–10 este produsă de limfocitele TH2, unele limfocite B (CD_5^+), monocite, keratinocite și de unele celule tumorale.

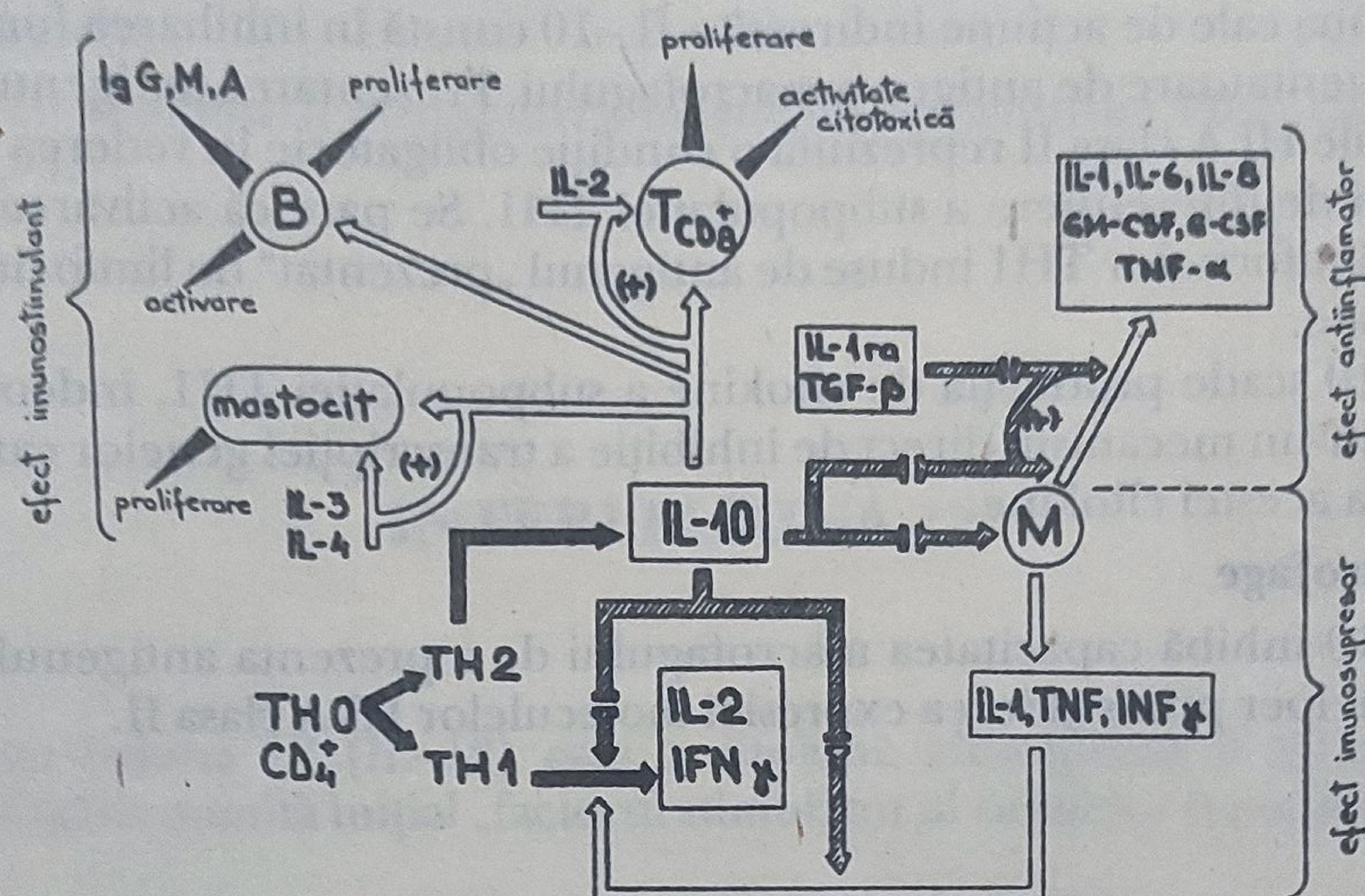


Fig. 10. Efectele biologice ale IL–10.

EFECTE BIOLOGICE

Efectele biologice ale IL–10 pot fi sistematizate în efecte imunosupresoare, antiinflamatorii și imunostimulatoare. IL–10 îndeplinește, astfel, rolul unui imunomodulator (fig. 10.).

EFECTE IMUNOSUPRESOARE

Limfocite T helper

MOSMANN și colaboratorii au evidențiat pentru prima dată, la șoarece, existența subpopulațiilor de limfocite TH1 și TH2 care se deosebesc prin „profilul de citokine" produs. Interleukina 10 produsă de subpopulația TH2 acționează asupra limfocitelor THO stimulând diferențierea acestora spre limfocitele TH2. În același timp, IL–10 inhibă diferențierea subpopulației TH1 printr-un mecanism de acțiune indirectă mediat pe două căi.

Prima cale constă în inhibiția producției de citokine a celulelor accesorii participante la diferențierea subpopulației TH1 și anume de IL–1, IL–12, TNF, IFNγ.

A doua cale de acțiune indirectă a IL–10 constă în inhibarea funcției de celulă prezentatoare de antigen a macrofagului. Prezentarea antigenului fixat pe molecule HLA clasa II reprezintă o condiție obligatorie în vederea inițierii procesului de diferențiere a subpopulației TH1. Se pare că activarea și diferențierea limfocitelor TH1 induse de antigenul „prezentat" de limfocitul B nu sunt afectate.

IL–10 scade producția de citokine a subpopulației TH1, îndeosebi de IFNγ, printr-un mecanism direct de inhibiție a transcripției genelor care codifică sinteza acestei citokine.

Macrofage

IL–10 inhibă capacitatea macrofagului de a prezenta antigenul limfocitului T helper prin scăderea expresiei moleculelor HLA clasa II.

EFECTE ANTIINFLAMATORII

Aceste efecte ale IL–10 se datorează inhibiției altor funcții ale macrofagului, cum este cea a sintezei de citokine „proinflamatorii" de tipul IL–1, IL–6, IL–8, GM–CSF și TNFα, precum și de radicali liberi ai oxigenului și derivați nitrici, indusă de activarea antigenică în cadrul răspunsului inflamator. Efectul inhibitor al IL–10 asupra sintezei citokinelor „proinflamatorii" are loc la nivel posttranscripțional și necesită probabil stimularea unei ribonucleaze.

Efectul antiinflamator este sinergic cu al altor „mediatori supresivi" și anume cu factorul beta de transformare a creșterii (TGF–β), antagonistul receptorului IL–1–R, (IL–1–ra) și PGE2.

EFECTE IMUNOSTIMULATOARE

Aceste efecte se realizează prin acțiunea IL–10 pe limfocitele B și T citotoxice.

Limfocite B

IL–10 crește viabilitatea limfocitelor B mature, stimulează expresia moleculelor HLA clasa II, proliferarea, diferențierea și producția de IgM, IgG și IgA.

Limfocite T citotoxice

IL–10 stimulează răspunsul proliferativ și funcția citotoxică a acestor celule sub acțiunea IL–2.

Mastocite

I1–10 stimulează proliferarea mastocitelor printr-un efect sinergic cu IL–3 și IL–4.

INTERLEUKINA 12

Interleukina 12 (IL–12) este o citokină identificată și caracterizată recent, fiind denumită inițial „factorul stimulator al celulelor natural ucigașe".

STRUCTURA MOLECULARĂ

I1–12 este un heterodimer alcătuit din două lanțuri proteice glicozilate de 40 kD și respectiv 35 kD, legate covalent și codificate de gene separate. Lanțul de 35 kD prezintă conformație de alfa-helix și omologie structurală cu IL–6 și G–CSF. Lanțul de 40 kD aparține familiei receptorilor hematopoetinici și are structura asemănătoare receptorului IL–6 (IL–6–R).

RECEPTORUL PENTRU IL–12

A fost identificat sub forma unei proteine membranare de 110 kD situat pe limfocitele T activate și celulele NK.

EFECTE BIOLOGICE

IL–12 are efecte pleiotrope asupra celulelor T și NK care pot fi sistematizate astfel: stimulează proliferarea, producția de citokine și citotoxicitatea populației de celule T și NK activate de limfokine (LAK).

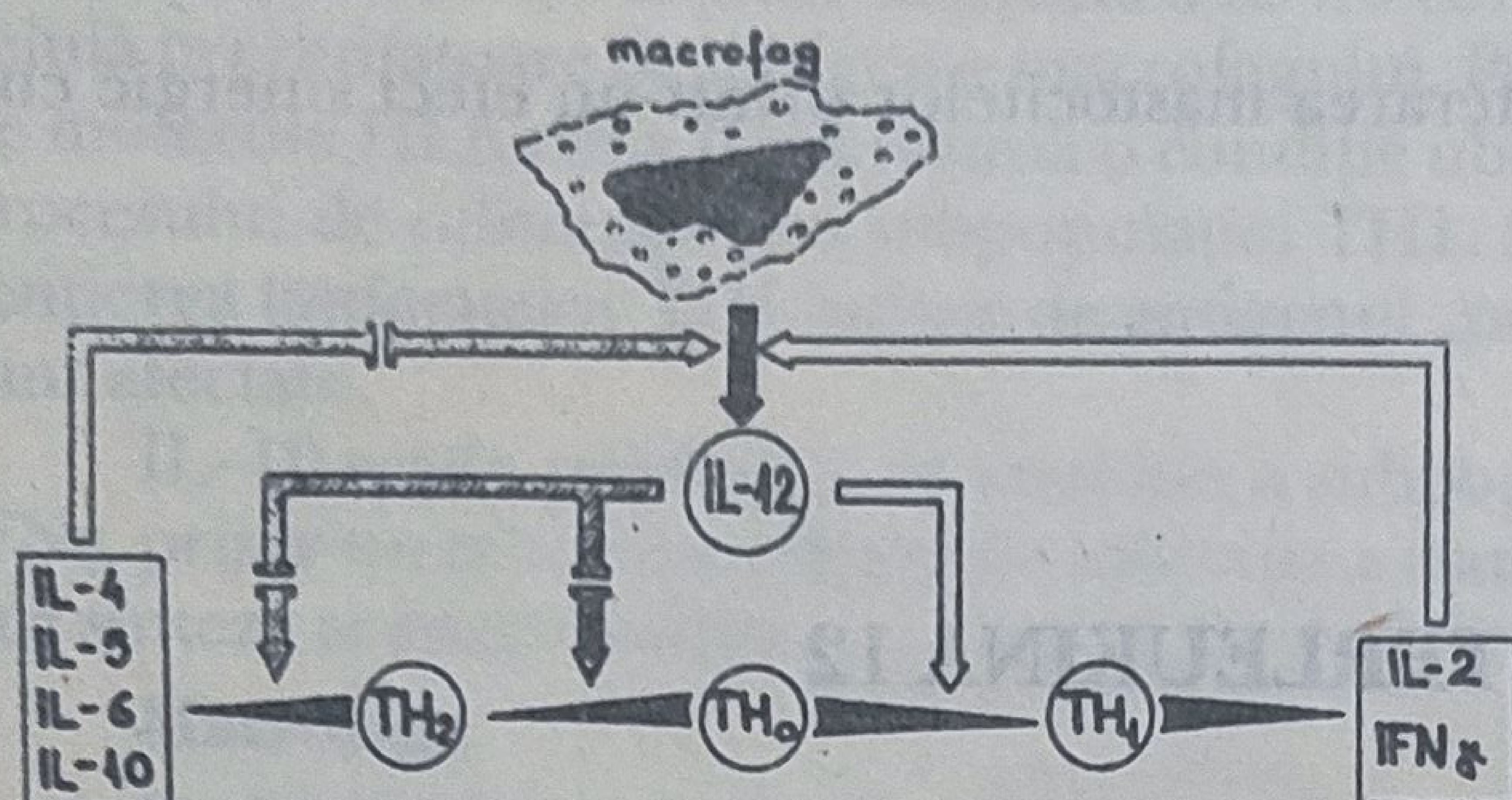


Fig. 11. Rolul IL–12 în diferențierea limfocitelor THO.

IL–12 acționează asupra fenotipului THO și favorizează diferențierea acestuia în limfocite TH1 cu profilul corespunzător de citokine produse. Acțiunea IL–12 asupra limfocitelor TH2 este directă și are loc în faza inițială a expunerii la antigen. IL–12 inhibă consecutiv diferențierea fenotipului TH2 și citokinele produse de acesta.

Producția de IFN a limfocitelor TH1 și a celulelor NK este efectul acțiunii directe a IL–12 asupra acestor celule în sensul favorizării transcripției genelor care codifică sinteza acestuia, dar și a unui sinergism de acțiune al IL–12 cu diverși factori mitogeni sau alte citokine (IL–1, IL–2, TNFα).

IL–12 acționează, astfel, ca factor „costimulator“ al producției de IFNγ de către limfocite. La rândul său, IFNγ, este considerat „mediatorul final“ al dezvoltării fenotipului TH1 indusă de prezența antigenului.

Însăși producția de IL–12 este supusă unui control mediat de alte citokine. IFNγ și IL–2 stimulează producția de IL–12 de către macrofag în timp ce IL–4, IL–10, IL–6 produse de limfocitele TH2, mastocite și macrofage au un efect inhibitor asupra acesteia (fig.11).

INTERFERONII

Interferonii (IFN) cuprind o familie de proteine cu rol esențial în apărarea organismului față de infecții virale prin „interferare“ cu replicarea virală. Interferonii au efecte antiproliferative și imunomodulatoare asupra celulelor „țintă“ expuse la antigene virale sau de alta natură.

Se descriu două tipuri de interferoni I și II care se deosebesc din punct de vedere structural, antigenic și al surselor celulare. Tipul I de interferon cuprinde IFN–α și β, iar tipul II este reprezentat de IFN–γ.

STRUCTURA MOLECULARĂ

Interferonii sunt glicoproteine monomere. IFN–α este reprezentat de un grup de 15 proteine cu greutate moleculară cuprinsă între 18 și 20 kD, distincte antigenic dar cu omologie structurală de 80%. Sunt codificate de un număr de 20 de gene diferite grupate pe cromozomul 9.

IFN–β are 20 kD și este codificat de o singură genă situată pe același cromozom 9. Între secvențele de aminoacizi ale IFN–α și β există omologie structurală de 25–30%. Infecția virală reprezintă principalul stimul care induce exprimarea rapidă a genelor care codifică sinteza acestor două tipuri de interferoni în oricare din celulele expuse la antigen.

IFN–γ de 20–25 kD nu prezintă omologie structurală cu IFN–α și β și este codificat de o singură genă localizată pe cromozomul 12.

RECEPTORII PENTRU INTERFERONI

Interacțiunea interferonilor cu receptorii lor induce expresia rapidă a unui grup de gene specifice. Activarea tardivă a altor gene cum sunt genele MHC clasa II, reprezintă a doua cale de mediere a efectelor biologice ale interferonilor, mult mai puțin specifică.

S-a descris receptorul pentru tipul I de interferon (IFN–RI) precum și

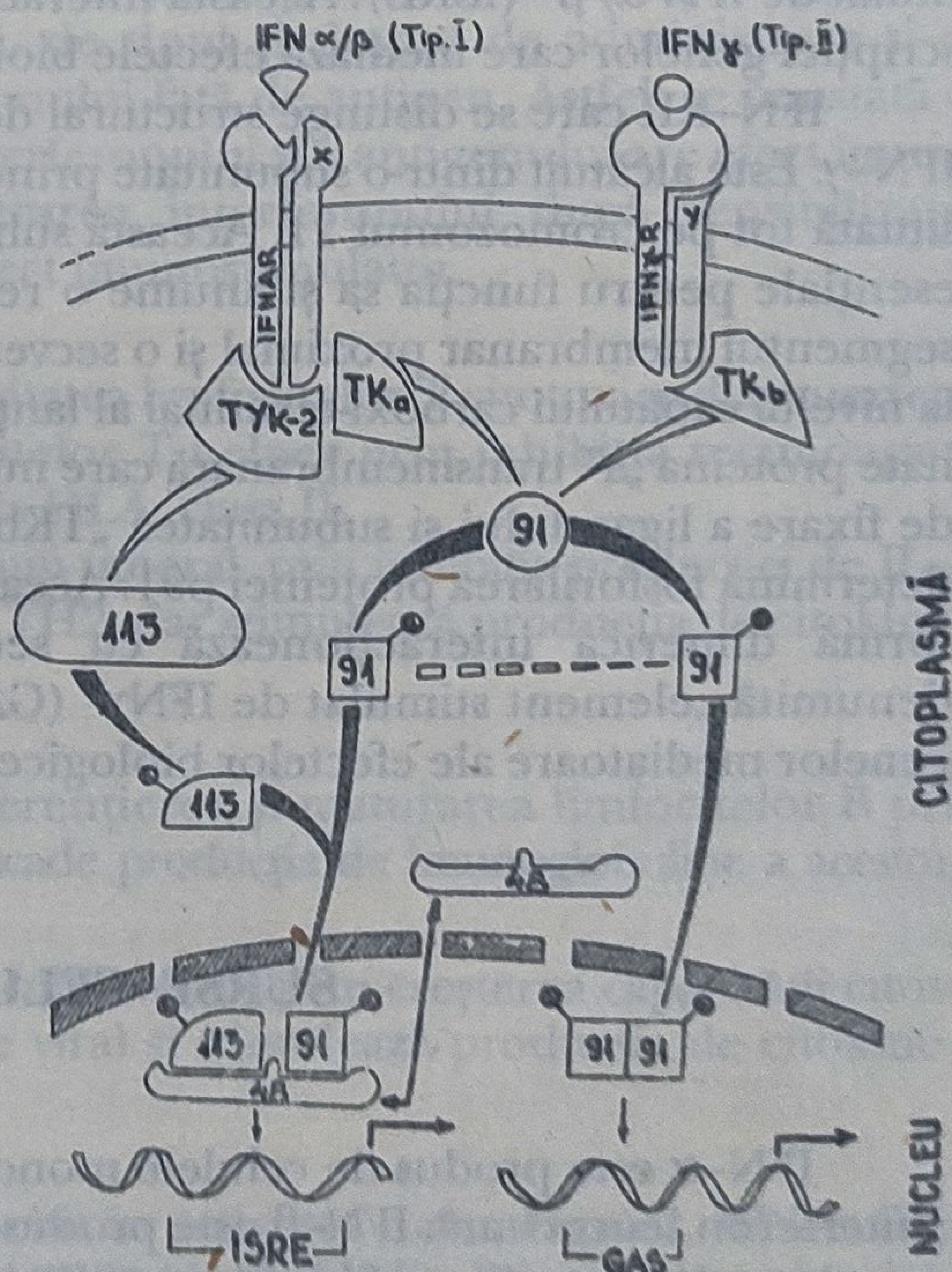


Fig. 12. Receptorii pentru interferoni.

un alt receptor pentru tipul II de interferon (IFN–RII). Structura acestor doi receptori este de tip multiunitar, iar mecanismul de semnalizare intracelulară nu implică producerea mesagerilor secundari (Ca, AMPc, DAG, IP3).

IFN–RI leagă cu aceeași afinitate atât IFN–α cât și β dar între acestea există competiție de fixare pe același receptor. Este alcătuit dintr-o subunitate proteică principală (IFNAR) codificată de o singură genă situată pe cromozomul 21. Această subunitate are adiționate trei subunități accesorii „X", „TYK–2" și „TKa" (fig.12).

Subunitatea „X" este o proteină transmembranară care participă la formarea situsului de fixare a ligandului și are rol în modularea activității receptorului IFN–RI.

„TYK–2" și „TKa" sunt subunități atașate segmentului intracitoplasmatic și au activitate tirozinkinazică determinând fosforilarea proteinelor intracitoplasmatice p91, p84 și p113. Acestea formează împreună cu proteina p 48 un complex stabil multimeric numit „factorul stimulator al genelor indus de interferoni" (ISGF). Complexul proteic este translocat în nucleu și interacționează specific cu secvența ADN-promotor denumită „element de răspuns stimulat de IFN α/β" (ISRE). Această interacțiune este urmată de inițierea transcripției genelor care mediază efectele biologice ale IFNα și β.

IFN–RII care se distinge structural de IFN–RI are afinitate mare pentru IFN–γ. Este alcătuit dintr-o subunitate principală (IFNγR) codificată de o genă situată tot pe cromozomul 21. Această subunitate are definite două domenii esențiale pentru funcția sa și anume o regiune de 48 aminoacizi situată în segmentul membranar proximal și o secvență de 3 aminoacizi (Tyr–Asp–His) la nivelul capătului carboxi-terminal al lanțului polipeptidic. IFNγR are adiționate proteina „Y" transmembranară care nu participă însă la formarea situsului de fixare a ligandului și subunitatea „TKb" cu activitate tirozinkinazică care determină fosforilarea proteinei p91. Aceasta este translocată în nucleu și sub formă dimerică interacționează cu secvența ADN–promotor specifică denumită „element stimulat de IFNγ" (GAS), care promovează transcripția genelor mediatoare ale efectelor biologice induse de IFNγ.

SURSE CELULARE

IFN–α este produs de celulele mononuclear-fagocitare și este denumit „interferon leucocitar". IFN–β este produs de fibroblasti dar și de leucocite și este denumit „interferon fibroblastic". IFN–γ denumit și „interferon imunitar" este secretat de limfocitele T activate și celulele NK.

EFECTE BIOLOGICE

Familia interferonilor are activitatea antivirală, antiproliferativă și imunomodulatorie. Interferonii produși în cursul răspunsului imun exercită o serie de acțiuni care nu diferă decât din punct de vedere cantitativ.

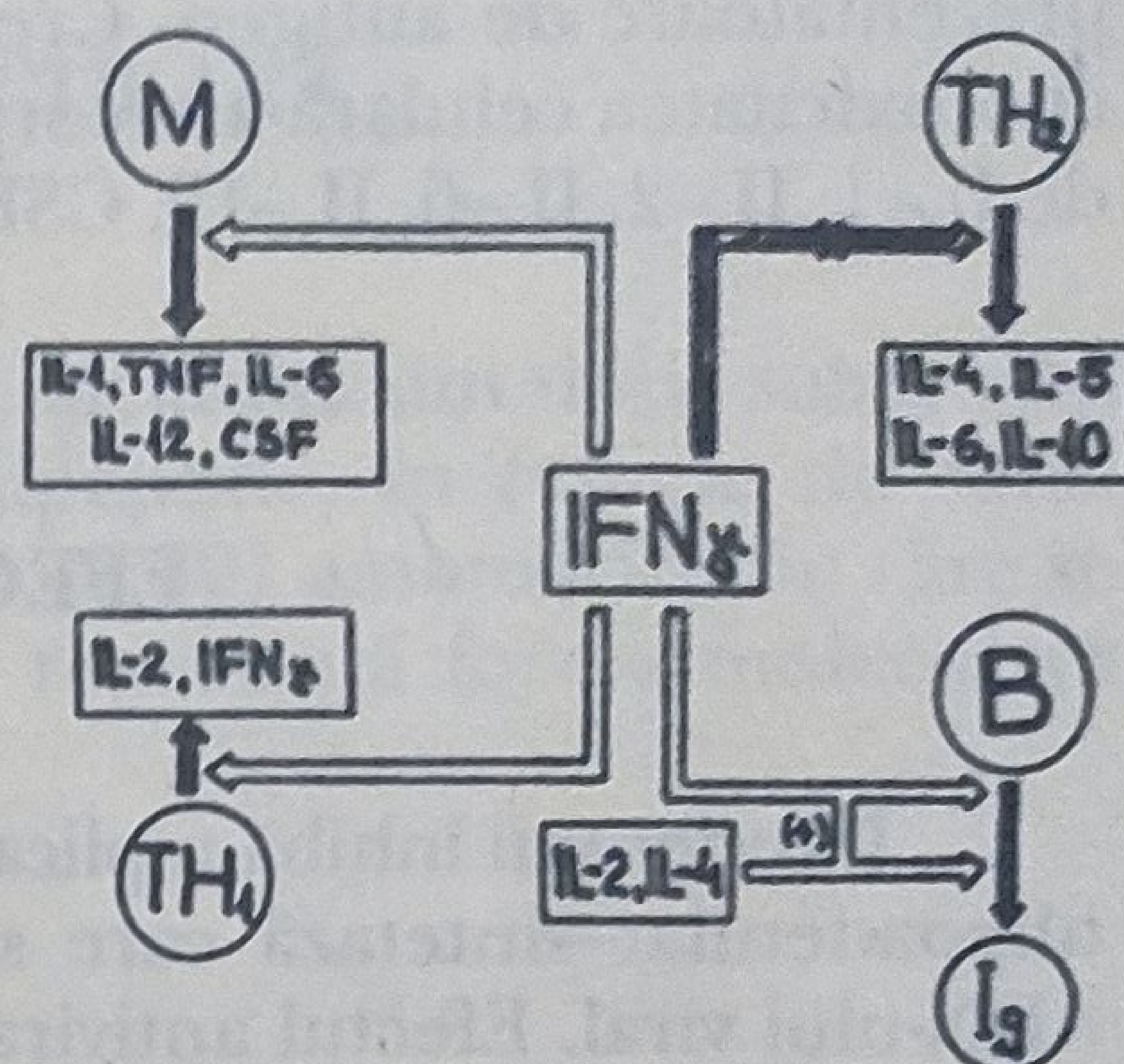


Fig. 13. Rolul IFN–γ în reglarea producției de citokine.

EFECTE IMUNOMODULATOARE

Interferonii joacă rolul de imunomodulatori prin efecte stimulatoare sau supresoare ale imunității celulare și umorale. Aceste efecte pot fi evidențiate și prin administrarea „in vivo" a interferonilor. Apariția efectului stimulator sau supresor al imunității depinde de doza de interferon administrată, de tipul și timpul de administrare și de momentul administrării interferonului față de antigen. Astfel, se constată că administrarea concomitentă a interferonului și a antigenului are efect imunosupresor, în timp ce administrarea interferonului după sensibilizarea sistemului imun la antigen are efect imunostimulator.

Limfocite T

Interferonii stimulează activitatea limfocitelor T citotoxice dar interferonul tip I inhibă activarea limfocitelor T helper prin inhibiția recunoașterii antigenului prezentat de molecula HLA, clasa II.

IFN–γ deprimă răspunsul imun umoral, prin inhibiția producției de IL–4, IL–6 și IL–10 de către limfocitele TH2, dar stimulează producția de citokine a limfocitelor TH1 (IFN–γ și IL–2).

Limfocite B

Interferonii stimulează diferențierea și maturarea limfocitelor B prin efect sinergic cu IL–2 și IL–4 dar scade producția de imunoglobuline a acestora.

Celule NK

Interferonul tip I activează celulele NK prin creșterea capacității citotoxice împotriva celulelor infectate viral și stimulează producția de citokine a acestei populații celulare.

Macrofage

Interferonii au un rol deosebit în activarea macrofagelor, IFN–α fiind denumit „factorul activator al macrofagelor" (MAF). Stimulează potențialul de citotoxicitate (bactericidă și tumoricidă) a macrofagului și funcția de celulă

prezentatoare de antigen. Cresc expresia FcR, participarea macrofagelor la citotoxicitatea celulară-anticorp dependentă (ADCC) și stimulează producția de IL–1, IL–2, IL–6, IL–12, CSF, TNF, dar și de IFN–γ a acestor celule.

EFECTE ANTIVIRALE

Interferonii inhibă replicarea virală prin favorizarea sintezei enzimei 2'–5' oligoadenilat–sintetază care se „interferează" cu replicarea ARN-ului sau ADN-ului viral. Efectul antiviral se realizează și indirect prin alterarea metabolismului celulei infectate viral, inhibiția proliferării celulare și stimularea expresiei moleculelor HLA clasa I care favorizează recunoașterea acestor celule de către sistemul imun.

EFECTE ANTITUMORALE

Interferonii inhibă proliferarea celulelor tumorale și stimulează activitatea citotoxică, tumoricidă, a limfocitelor T, celulelor NK, macrofagelor precum și a limfocitelor ucigașe activate de limfokine (LAK).

FACTORUL DE TRANSFORMARE A CREȘTERII

Se descriu două citokine cu rol în transformarea creșterii celulare notate α și β (TGFα și TGFβ)

TGFα este o citokină identificată în mediul celulelor transformate prin proliferare oncogenă cu rol și în diferențierea și creșterea celulelor normale, îndeosebi a celulelor mezenchimale și epiteliale.

Producția crescută de TGFα este implicată în dezvoltarea anumitor tipuri de neoplasme.

TGFβ reprezintă o familie de polipeptide modulatoare ale creșterii celulare a căror sinteză este codificată de gene diferite și care prezintă receptori specifici pe toate tipurile celulare. S-au descris până în prezent mai multe citokine strâns înrudite care fac parte din familia factorului de transformare a creșterii și anume TGFβ1; TGFβ2; TGFβ1,2; TGFβ3; TGFβ4 și TGFβ5 cu omologie structurală de 80%.

STRUCTURA MOLECULARĂ

TGFβ este o proteină dimer, de 28 kD, alcătuită din două subunități identice sau înrudite structural cu alte polipeptide, în funcție de sursa celulară. Este produsă sub formă de precursor cu 391 aminoacizi din care se formează prin clivaj enzimatic un dimer ce reprezintă forma moleculară matură.

RECEPTORII PENTRU TGF–β

S-au descris cinci tipuri de receptori TGF–β–R I, II, III, IV și V cu distribuție celulară heterogenă. TGF–β–R I, II, și III au distribuția celulară largă, în timp ce TGF–β–R IV este distribuit pe celulele endoteliale, iar TGFβ–R V pe celulele epiteliale, endoteliale, fibroblasti și condrocite. Densitatea acestor receptori variază între 100 și 1 000/celulă. Structura este diferită iar secvența de aminoacizi a tipurilor I, IV și V nu a fost complet identificată.

TGF–β–R II, de 80 kD și 522 aminoacizi, prezintă un segment intracelular cu activitatea serin-treonin-kinazică, răspunzătoare de autofosforilare în cadrul mecanismului de semnalizare (fig. 14).

TGF–β–R, III, de 280 kD și 830 aminoacizi, are afinitate de 30–300 pM. Segmentul extracelular prezintă zone bogate în serină și glicină care alternează caracteristic cu zone bogate în glicozilaminoglicani. Acest receptor pre-

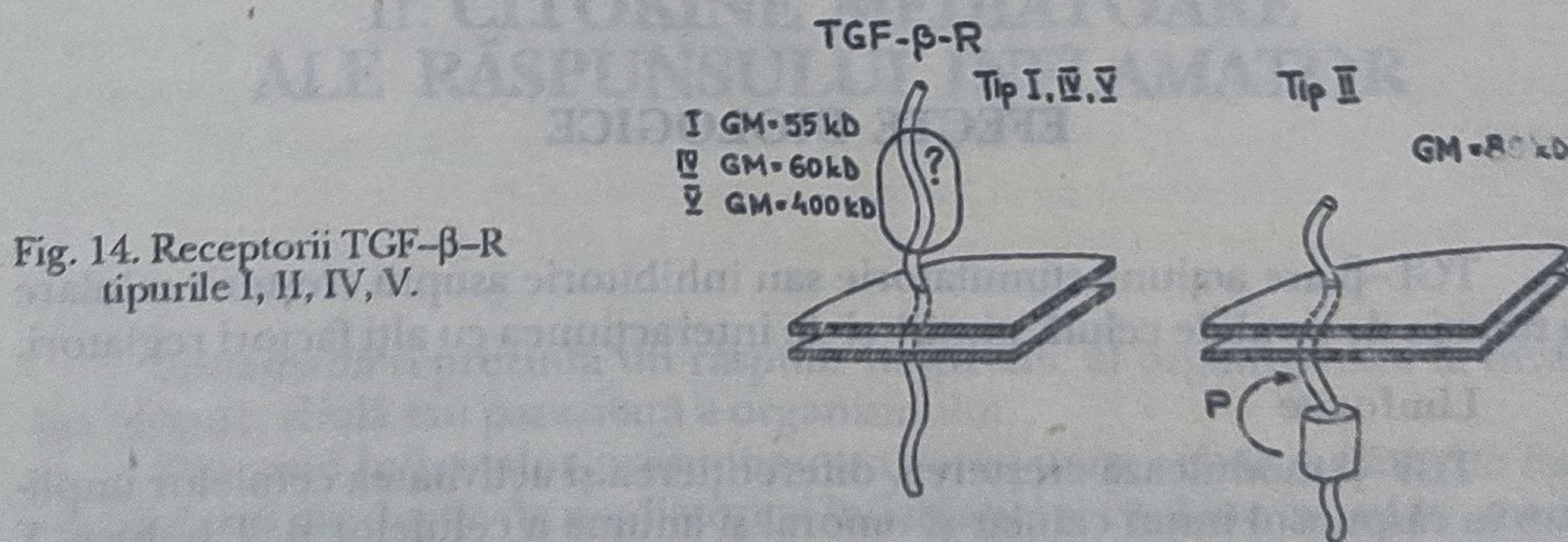


Fig. 14. Receptorii TGF–β–R tipurile I, II, IV, V.

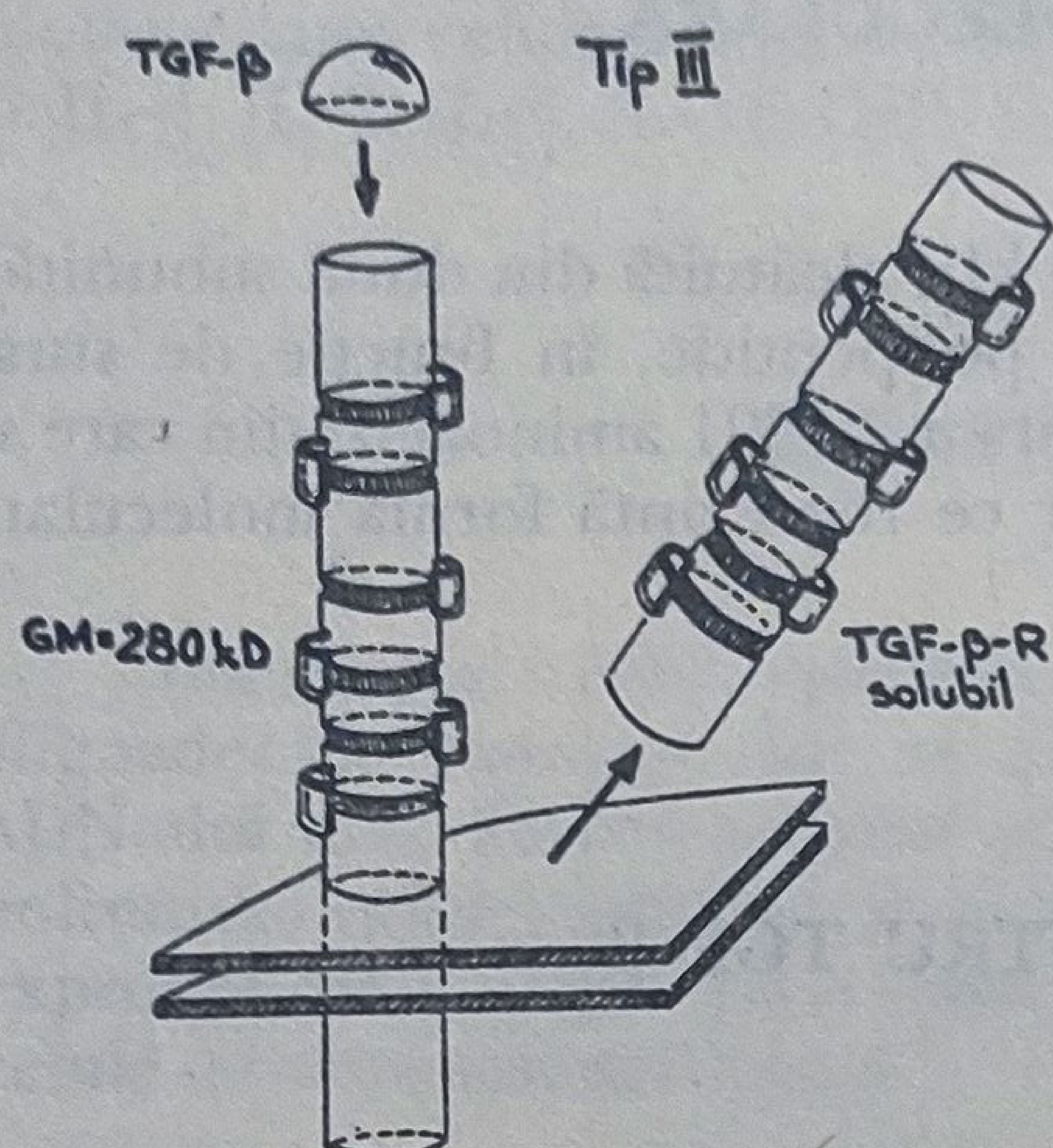


Fig. 15. Receptorul TGF–β–R tipul III.

zintă o formă solubilă (TGF–β–R IIIs) rezultată prin proteoliza enzimatică a segmentului extracelular (fig. 15). Mecanismul de semnalizare intracelulară presupune fosforilarea segmentului intracitoplasmatic sub acțiunea tirozinkinazei.

SURSE CELULARE

TGF–β este produs de limfocitele T antigen activate și de celulele mononuclear-fagocitare activate bacterian.

EFECTE BIOLOGICE

TGF–β are acțiune stimulatorie sau inhibitorie asupra creșterii celulare în funcție de tipul de celulă „țintă" și de interacțiunea cu alți factori reglatori.

Limfocite

TGF–β modulează creșterea, diferențierea și activitatea celulelor implicate în răspunsul imun celular și umoral și anume a celulelor B, T helper, T citotoxice, NK și LAK. Inhibă producția de IgG și IgM dar stimulează pro-

ducția de IgA a limfocitelor B; inhibă activitatea celulelor NK și producția de citokine a limfocitelor T. Această citokină reprezintă un imunosupresor al expansiunii celulare excesive care poate apare în cadrul răspunsului imun.

Macrofage

TGF–β inhibă proliferarea și activitatea macrofagelor dar stimulează producția de factori de proliferare celulară de către macrofag.

Celule hematopoetice

TGF–β este un factor deprimant al hematopoezei prin inhibiția proliferării, diferențierii și măturării progenitorilor hematopoetici.

ROLUL TGF–β ÎN VINDECAREA PLĂGILOR

TGF–β determină fibroplazie, angiogeneză și stimulează repararea tisulară. Are un puternic efect chemotactic și proliferativ asupra fibroblastilor și stimulează producția de colagen, fibronectină și colagenaze a acestora. Are un rol important în formarea matricii extracelulare în sensul stimulării sintezei de proteine structurale: fibronectină, colagen, condroitin-sulfat, dermatan-sulfat, glicozaminoglicani, dar și în organizarea dispunerii celulelor și a contactelor intercelulare.

Stimulează proliferarea și activitatea osteoclastelor favorizând reabsorbția osoasă și turnoverul țesutului osteo-cartilaginos.

II. CITOKINE MEDIATOARE ALE RĂSPUNSULUI INFLAMATOR

Inflamația reprezintă un răspuns nespecific al organismului la invazia bacteriană, virală sau parazitară a organismului.

Procesul inflamator presupune activarea unor celule cu funcție fagocitară dar și producția de mediatori ai inflamației și citokine cu rol în „medierea și modularea” răspunsului inflamator. Unele dintre aceste citokine cum

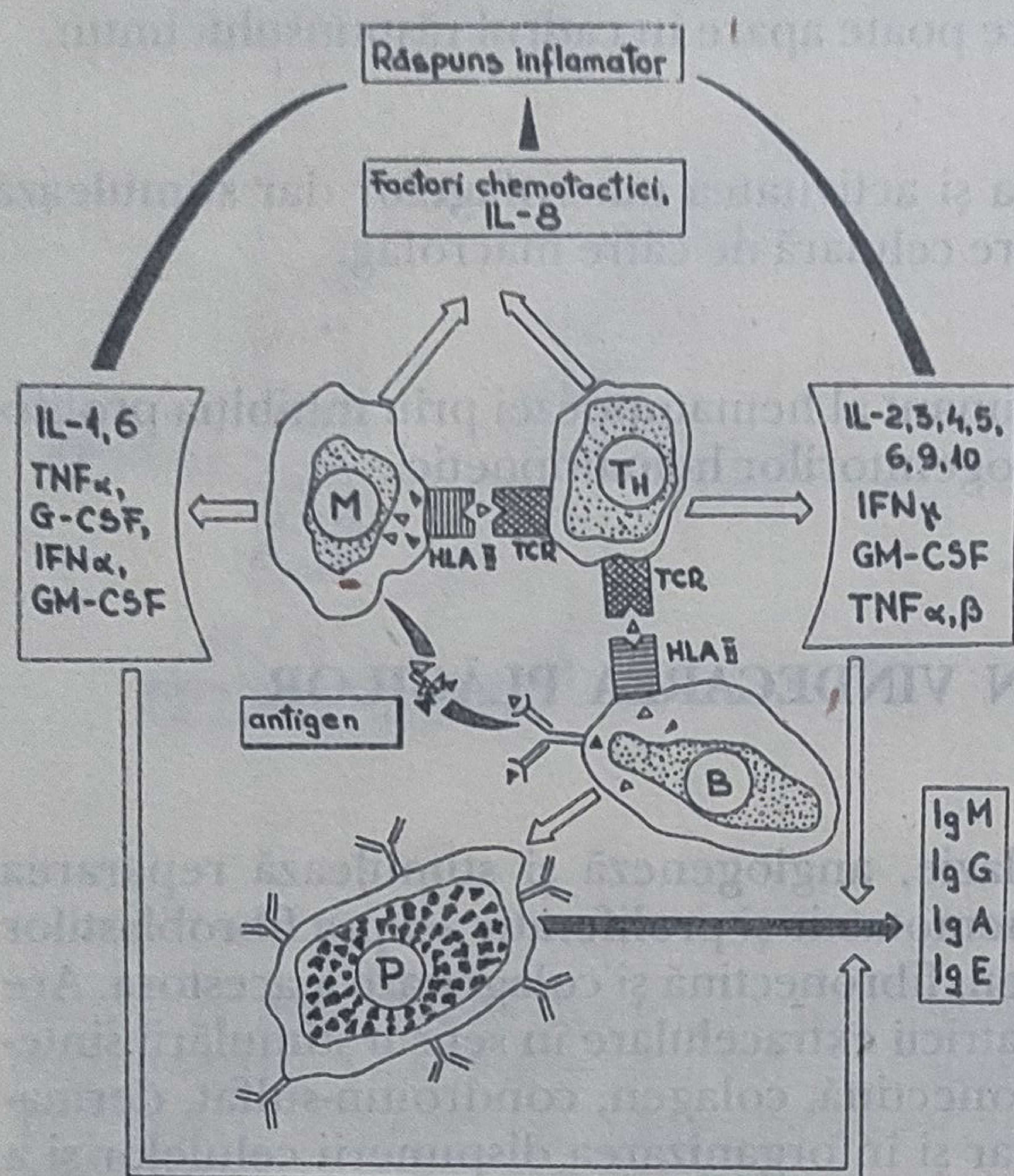


Fig. 16. Citokine mediatoare ale răspunsului inflamator.

sunt IL–1, TNF, IL–6, IL–8, IFN–γ și CSF, au efecte proinflamatorii, iar altele ca IL–4, IL–10 și TGF–β au efecte antiinflamatorii (fig. 16).

Citokinele stimulatoare ale inflamației au ca sursă celulară macrofagele și limfocitele T activate în prezența bacteriilor, produsului microbian sau parazitar, dar și celulele endoteliale, fibroblastii și neutrofilele devenite celule secretoare sub acțiunea altor citokine.

Acțiunile biologice proinflamatorii ale acestui grup de citokine recunosc ca celula „țintă" o populație celulară heterogenă reprezentată de neutrofile macrofage, celule endoteliale, hepatocite etc. Aceste citokine acționează asupra neutrofilelor prin stimularea chemotactismului și a fagocitozei, iar asupra celulelor endoteliale prin creșterea adeziunii față de leucocite și stimularea producției de mediatori ai inflamației și factori procoagulanți.

IL–1, TNF și IL–6 acționează asupra hepatocitului stimulând producția „proteinelor de fază acută" (proteină C–reactivă, α2–macroglobulina, fibrinogenul, ceruloplasmina, α 1–antitripsina etc.) și asupra sistemului nervos central determinând febra, anorexie și somnolență.

În cadrul răspunsului inflamator se stabilește o „ierarhie" între citokinele participante, referitor la intensitatea efectelor biologice și la momentul producerii lor. IL–1 și TNF sunt principalii reprezentanți ai grupului de cito-

kine cu efecte inflamatorii locale și sistemice și stimulează producția de IL–6, IL–8 și GM–CSF din celula sursă. IL–6 are efecte proinflamatorii sinergice cu IL–1 și TNF, asigurând amplificarea acțiunilor acestora.

IL–8 reprezintă cel mai important factor chemotactic pentru neutrofile și induce eliberarea de enzime proteolitice răspunzătoare de „injuria" tisulară locală.

GM–CSF, G–CSF și M–CSF stimulează funcția neutrofilelor și a macrofagelor mature și reprezintă pentru aceste celule factori chemotactici locali.

IFN–γ crește sensibilitatea celulei „țintă" la acțiunea citokinelor proinflamatorii și stimulează în mod deosebit funcția macrofagului.

IL–4 și IL–10 acționează ca factori antiinflamatori prin inhibiția sintezei de citokine inflamatorii, îndeosebi de IFN–γ . La această categorie de factori se pot adăuga receptorii solubili ai IL–1 și TNF care prin fixarea citokinelor specifice circulante împiedică acțiunea acestora pe receptorii membranari. Există, de asemenea, inhibitori sau antagoniști naturali ai citokinelor proinflamatorii cum este antagonistul receptorului pentru IL–1 (IL–1–ra) sau antagonistul natural al TNF–α. Între citokina și antagonist se stabilește o competiție de fixare pe același receptor care determină diminuarea efectelor biologice ale citokinei. Existența receptorilor solubili și a antagoniștilor naturali ai citokinelor reprezintă o componentă a mecanismului de limitare a procesului inflamator. La aceasta se adaugă durata scurtă de viață a citokinelor precum și dependența producției de prezența agentului inflamator.

Sunt descrise în continuare interleukina 1, factorul de necroză tumorală, interleukina 6 și interleukina 8 ca principale citokine implicate în desfășurarea procesului inflamator.

INTERLEUKINA 1

Interleukina 1(IL–1) a fost identificată ca „factor de activare a limfocitelor B". Începând cu anul 1979 s-a stabilit denumirea de interleukina 1 pentru o familie de citokine care cuprinde IL–1α și IL–1β. Cele două tipuri de interleukine 1 au surse celulare comune și acționează asupra aceluiași tip de receptori dar diferă prin secvență de aminoacizii și afinitatea față de ligand. Sunt codificate de gene diferite situate pe cromozomul 2.

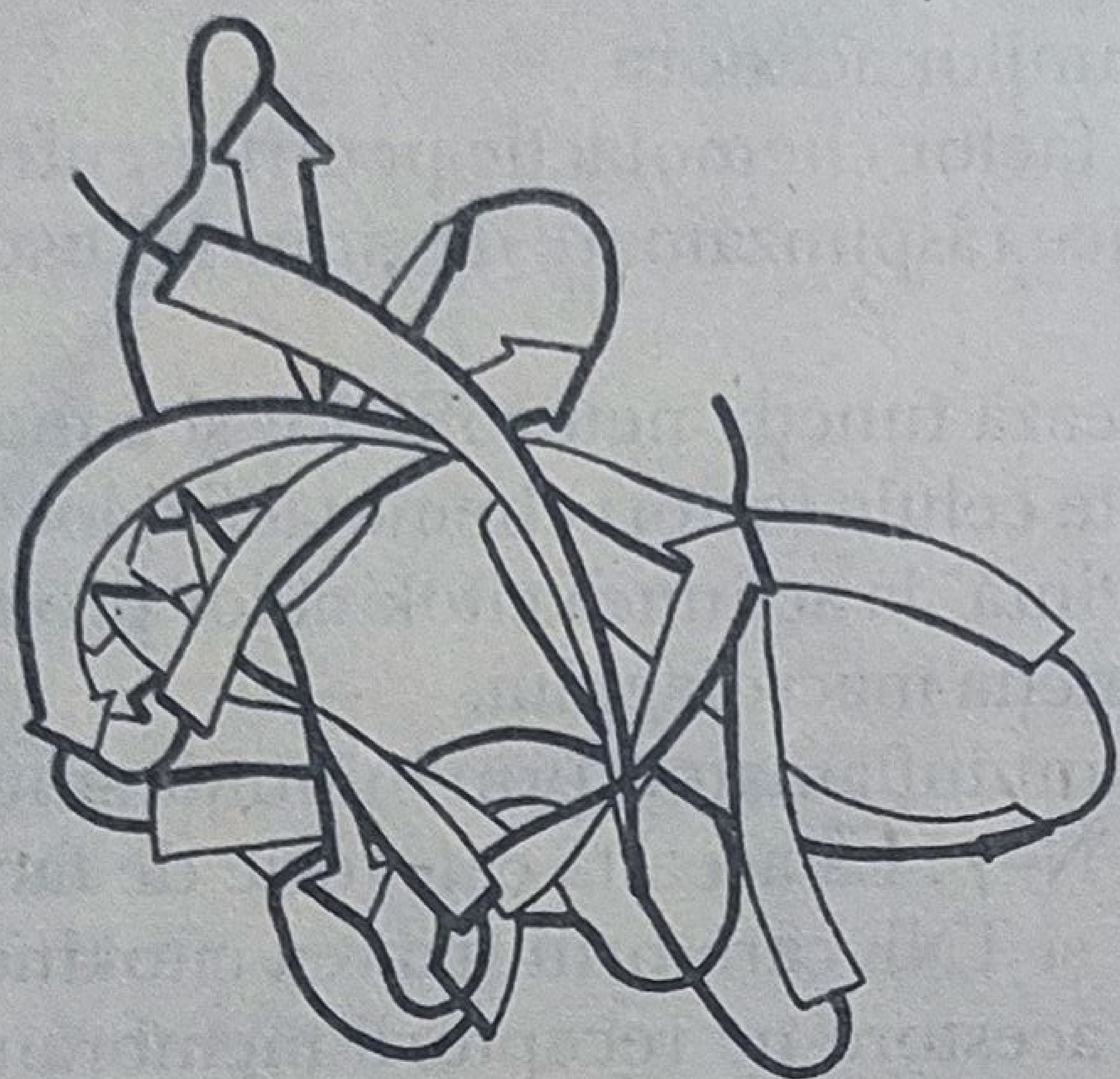


Fig. 17. Structura tridimensională a IL–1β.

STRUCTURA MOLECULARĂ

IL–1α și β au omologie structurală de 25%. S-a descris pentru IL–1β structura tridimensională reprezentată de șase perechi de β–plicaturări antiparalele (fig. 17.).

Interleukinele 1 sunt sintetizate inițial ca precursori de 31 kD și 271 aminoacizii pentru IL–1α și 269 aminoacizii pentru IL–1β. În urma scindării proteolitice a precursorilor la nivelul capătului carboxi-terminal iau naștere formele mature de IL–1α și β.

Precursorul IL–1α este scindat intracelular, în timp ce precursorul IL–1β atât intracelular cât și extracelular (fig. 18). Forma matură a IL–1α, de 17,5 kD,

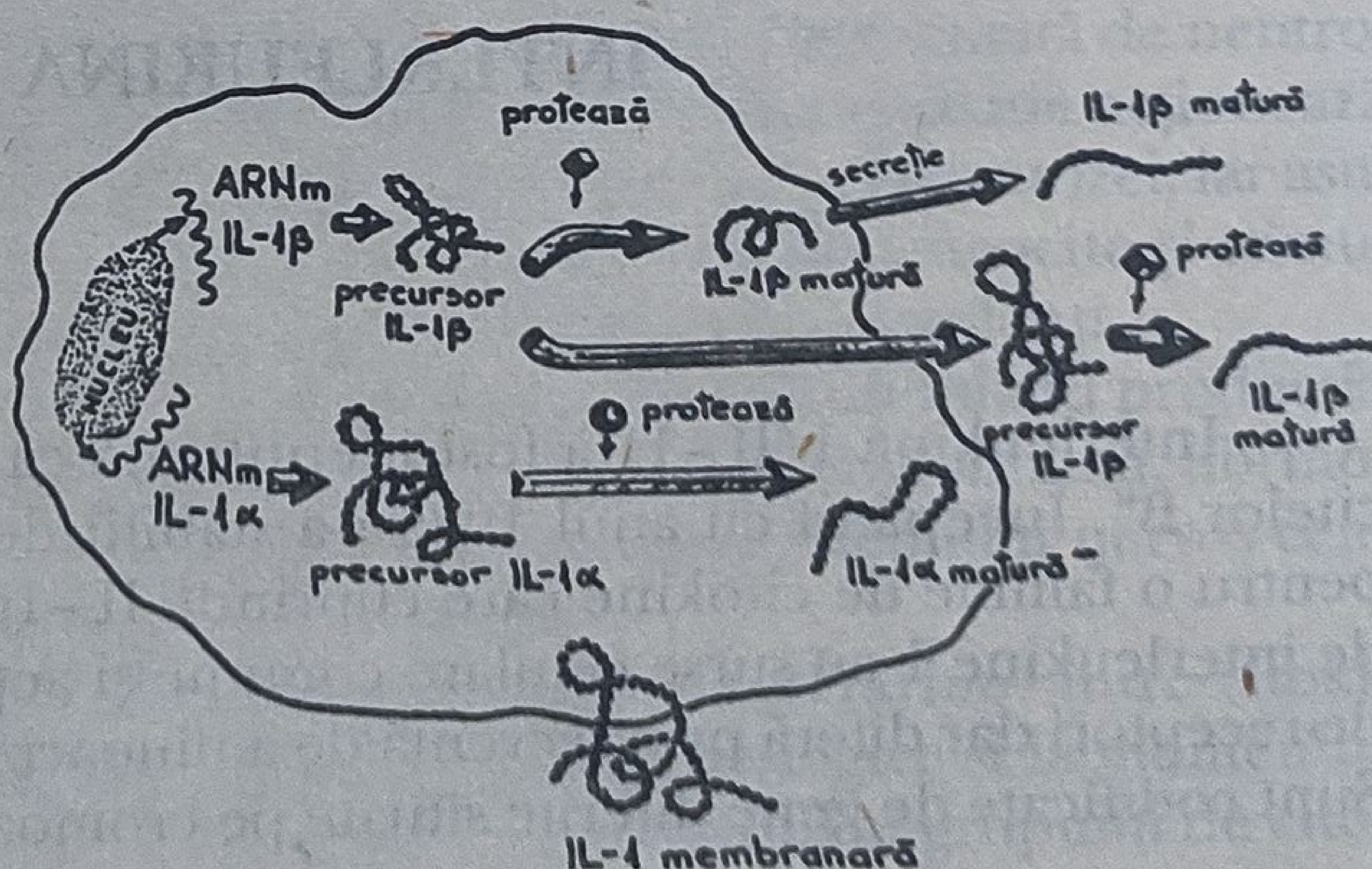


Fig. 18. Sinteza IL–1α și IL–1β.

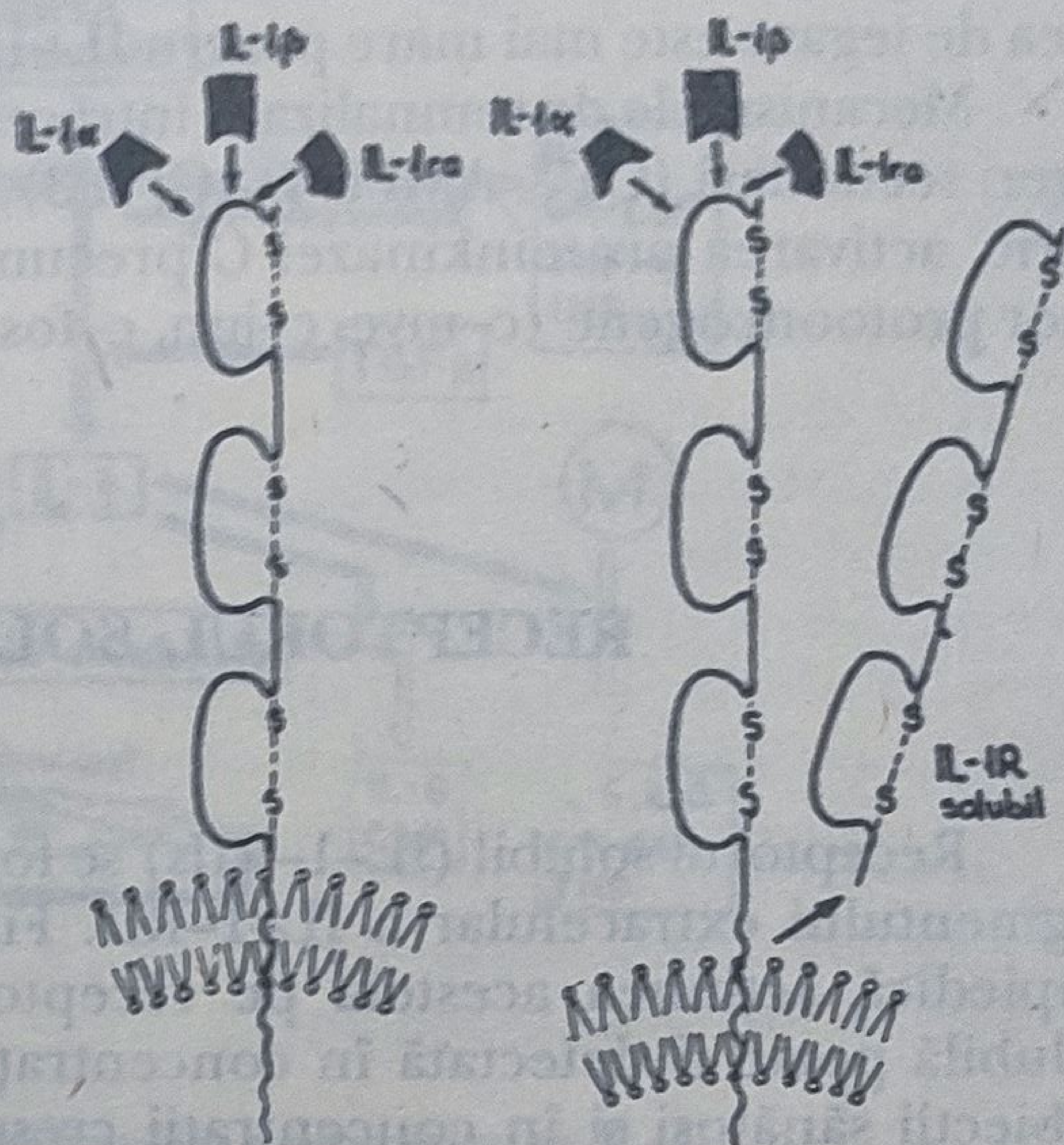


Fig. 19. Receptorii IL–1–R I și II

are o secvență de 159 aminoacizi și rămâne intracelular, la nivelul citosolului, până când este secretată ca moleculă biologic activă cu rolul de mesager autocrin. Precursorul IL–1α este transportat pe suprafața celulară sub formă de „IL–1 membranară" care îndeplinește funcția unui mesager paracrin. Forma matură a IL–1β are 17,3 kD și 153 aminoacizi. Clivajul intracelular al precursorului are loc sub acțiunea unei proteaze specifice numită „enzimă de conversie a IL–1β", iar secreția extracelulară presupune exocitoza și transportul activ.

RECEPTORI PENTRU IL–1

Sunt descrise două tipuri de receptori IL–1–R I și IL–1–R II codificați de gene care fac parte din superfamilia genelor imunoglobulinelor. Între receptori există omologie structurală în proporție de 80%.

La nivelul segmentului extracelular, organizat în domenii cu structura imunoglobulinică, este situat situsul de fixare al ligandului specific (fig. 19).

Cele mai multe varietăți celulare au ambele tipuri de receptori cu excepția celulei musculare netede și a fibroblastului care prezintă doar tipul I. IL-1-RI, de 80 kD, este distribuit pe limfocite T, B, fibroblaști, keratinocite, cu

densitate de 25–1 000/receptori/celulă. Are afinitate de legare mai mare pentru IL–1α. IL–1–R II, de 65 kD, este distribuit pe limfocite B, monocite/macrofage, granulocite şi are densitatea între 200–800 receptori/celulă. Afinitatea de legare este mai mare pentru IL–1β.

Mecanismele de semnalizare intracelulară presupun: producerea de mesageri secundari (Ca^{++}, AMPc, DAG, IP3), radicali liberi ai oxigenului şi oxid nitric, activarea proteinkinazei C precum şi activarea şi creşterea expresiei unor protooncogene (c–myc, c–jun, c–fos, gro).

RECEPTORUL SOLUBIL AL IL–1

Receptorul solubil (IL–1–RIIs) se formează prin scindarea enzimatică a segmentului extracelular a IL–1–RII. Fixează interleukina 1 circulantă şi impiedică acţiunea acesteia pe receptorii membranari specifici. Forma solubilă poate fi detectată în concentraţii reduse în lichidele biologice la subiecţii sănătoşi şi în concentraţii crescute în lichidul sinovial şi plasma pacienţilor cu artrita reumatoidă.

ANTAGONISTUL RECEPTORULUI IL–1–R (IL–1–ra)

IL–1–ra a fost identificat şi clonat în 1990 de către HANNUM şi EISENBERG şi are structura omoloagă interleukinei 1. Se fixează pe ambii receptori IL–1–R având rolul de inhibitor competitiv al IL–1.

SURSE CELULARE

Sursele celulare ale IL–1 sunt aproape toate celulele sistemului mononuclear-fagocitar şi limfocitele, în special T. Stimularea producţiei de IL–1 este mediată prin mecanisme antigen-dependente şi antigen-independente (fig. 20).

Stimularea antigen-dependentă este realizată prin două mecanisme. Primul mecanism are la bază contactul între celule prezentatoare de antigen

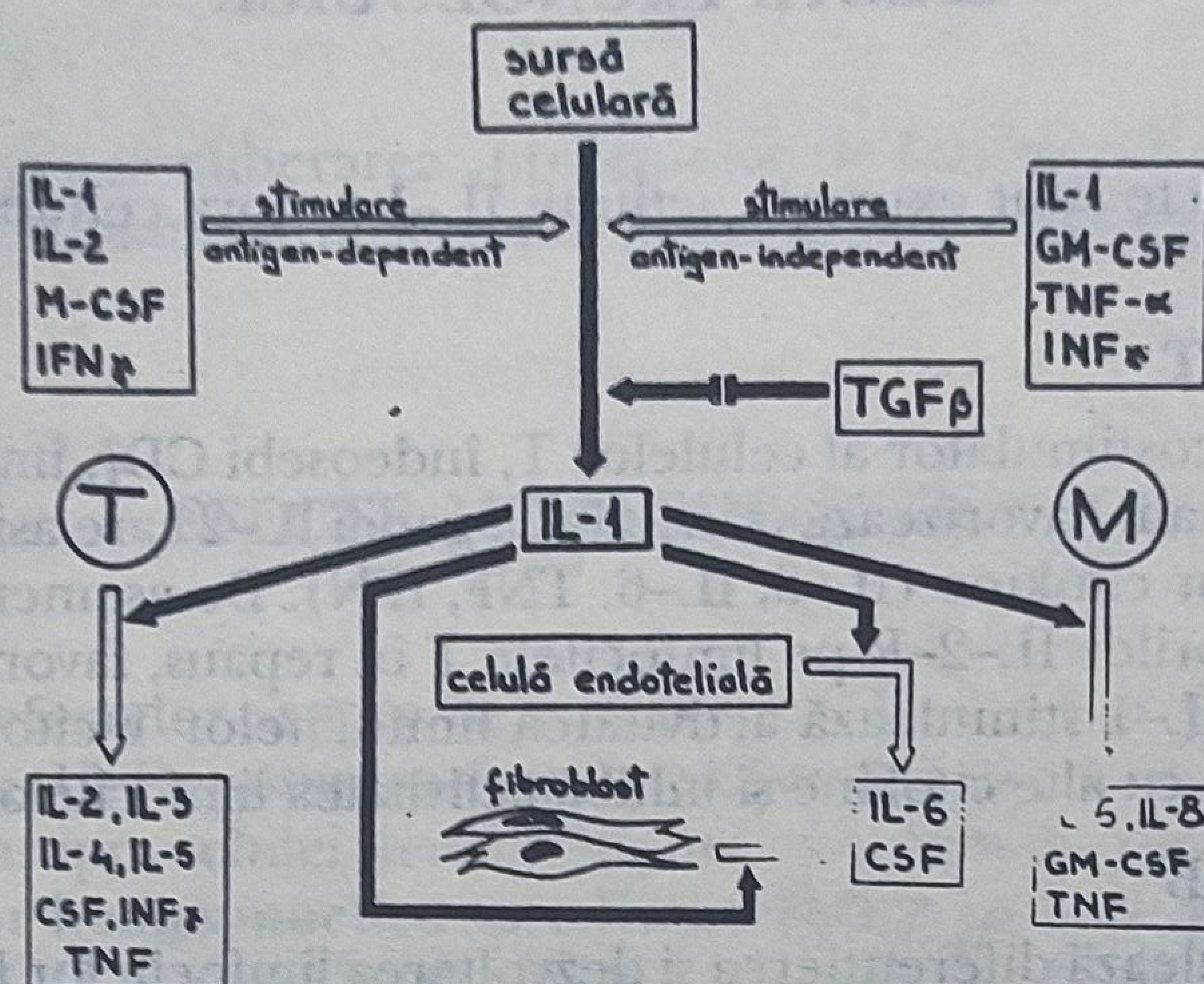


Fig. 20. Mecanisme de stimulare a producției de IL–1.

și limfocitul T, „susținut" de molecula de adeziune și „mediat" de IL–1 membranară. Al doilea mecanism este mediat de citokine produse de limfocitele T antigen activate, cum sunt IL–2, IFN–γ și M–CSF.

Stimularea antigen independentă este realizată prin acțiunea directă a agenților patogeni de natură virală, bacteriană sau non-microbiană. Corelat cu acest mecanism se remarcă acțiunea stimulatorie a citokinelor: GM–CSF, TGF–β, TNF–α, IFN–γ și a IL–1 însăși.

Inhibiția producției de IL–1 este realizată de factori identificați în lichidele biologice, în condiții fiziologice sau patologice (infecții virale cu HIV, citomegalovirus, virus Epstein–Barr; infecție parazitară; tratament cu radiații UV). În cadrul inhibitorilor naturali ai IL–1 s-a descris „tripeptidul inhibitor carboxi-terminal al IL–1" care acționează ca inhibitor competitiv prin fixare pe receptorii membranari.

EFECTE BIOLOGICE

Interleukina 1 are efecte biologice multiple cu implicații imunologice, hematopoetice, neuroendocrine și inflamatorii.

EFECTE IMUNOLOGICE

Aceste efecte sunt expresia acțiunii IL–1 asupra celulelor imunocompetente.

Limfocite T

IL–1 este costimulator al celulelor T, îndeosebi $CD4^+$, împreună cu activatori monoclonali. Favorizează transcripția genei IL–2 care asigură producția în cascadă a altor citokine (IL–3, IL–6, TNF, IFN). De asemenea, stimulează expresia receptorilor IL–2–R pe limfocitele T în repaus, favorizând activarea acestor celule. IL–1 stimulează activitatea limfocitelor T citotoxice printr-o acțiune sinergică cu alte citokine și inhibă activitatea limfocitelor T supresoare.

Limfocite B

IL–1 stimulează diferențierea și dezvoltarea limfocitelor B, expresia FcR și producția de imunoglobuline.

EFECTE INFLAMATORII

IL–1 acționează pe celulele efectoare ale răspunsului inflamator în sensul activării, stimulării producției de mediatori ai inflamației precum și a creșterii expresiei moleculelor de adeziune intercelulară.

Monocite/Macrofage

Pe monocite și macrofage Il–1 are acțiune chemotactică, stimulează fagocitoza și producția de mediatori ai inflamației, îndeosebi de prostaglandine, dar și de citokine ca IL–6, IL–8, GM–CSF și TNF.

Neutrofile

IL–1 reprezintă un factor chemotactic și stimulator al producției de neutrofile. Stimulează fagocitoza, expresia moleculelor de adeziune și producția de mediatori ai inflamației.

Celule endoteliale

Sub acțiunea IL–1 crește adeziunea celulei endoteliale față de leucocite, expresia moleculelor HLA, producția de tromboxan și activitatea procoagulantă a acestei celule. Stimulează proliferarea celulei endoteliale dar în același timp reprezintă un factor reglator, limitativ, al acestui proces. IL–1 produsă în cantitate mare de celulele endoteliale activate scade expresia re-

ceptorilor acestor celule față de diverși factori de creștere, deteminând inhibiția angiogenezei.

Hepatocite

IL–1 stimulează eliberarea „proteinelor de faza acută" la nivelul hepatocitelor prin stimularea transcripției genelor care codifică sinteza acestor proteine.

EFECTE HEMATOPOETICE

Datorită efectelor asupra hematopoezei, IL–1 a fost denumită inițial „hematopoetina–1". Ea potențează acțiunea factorilor stimulatori ai coloniilor celulare (CSF) asupra celulei stem multipotente și stimulează dezvoltarea celulelor progenitor hematopoetice spre linii celulare cu înalt grad proliferativ (colonii „HPP"). IL–1 stimulează celulele stromale ale măduvei hematogene în producerea de CSF și crește expresia receptorilor acestora.

EFECTE NEUROENDOCRINE

IL–1 mediază interacțiuni neuro-neuronale și neuronal-gliale probabil ca un *neurotransmițător* și *neuromodulator*.

Sistem nervos central

Prin acțiune asupra sistemului nervos central IL–1 produce febra *(pirogen endogen)*, somnolența și anorexie, activează axul hipotalamo-hipofizar și inhibă axele hipotalamo-hipofizo-gonadic și hipotalamo-hipofizo-tiroidian. Stimulează secreția de hormon eliberator de corticotropina prin activare hipofizo-adrenală. Inhibă secreția hormonului hipotalamic eliberator de gonadotrofină, a hormonului eliberator de tireotropină, a vasopresinei și oxitocinei.

IL–1 acționează direct pe glandele endocrine „țintă" și anume pe hipofiza, gonade, tiroida și pancreas. Totalitatea efectelor neuroendocrine în care sunt implicate citokine de tipul IL–1, IL–2, IL–6 și TNF sugerează o integrare neuro-imuno-endocrină care asigură un răspuns homeostatic la activarea sistemului imun.

Hipofiza

Prin stimularea secreției de hormon adrenocorticotrop, IL–1 crește concentrația de glucocorticoizi din circulație.

Gonade

IL–1 inhibă capacitatea de reproducere prin scăderea producţiei de androgeni de către celulele Leydig testiculare şi respectiv celulele interstiţiale ovariene.

Tiroida

IL–1 inhibă secreţia hormonilor tiroidieni.

Pancreas

Prin inhibiţia eliberării de insulină din celulele β insulare IL–1 contribuie la homeostazia glicemică.

EFECTELE IL–1 ASUPRA ŢESUTULUI OSTEO-CARTILAGINOS

Il–1 stimulează proliferarea osteoblastelor, osteoclastelor, şi a condrocitelor precum şi producţia de prostaglandine, fosfatază alcalină şi colagenaze a acestora. Stimulează reabsorbţia osoasă prin creşterea activităţii osteoclastelor şi odată cu aceasta turnoverul ţesutului osos şi cartilaginos.

ROLUL IL–1 ÎN REPARAREA TISULARĂ

IL–1 stimulează proliferarea fibroblaştilor, celulelor sinoviale, epiteliale şi endoteliale. Stimulează producţia de prostaglandine şi colagenaze a fibroblastului şi de colagen a celulei epiteliale. Prin aceste efecte IL–1 are rolul de potentare a reparării tisulare.

FACTORII DE NECROZĂ TUMORALĂ

Grupul factorilor de necroză tumorală (TNF) cuprinde două proteine înrudite: TNFα (casectină) şi TNFβ (limfotoxină) denumite astfel pe baza proprietăţii de a produce infarctizări şi necroză hemoragică la nivelul tumorilor.

STRUCTURĂ MOLECULARĂ

TNFα şi β sunt sintetizate ca proteine neglicozilate precursoare de 25 kD. Sinteza acestora este codificată de gene situate în subregiunea MHC clasa III de pe braţul scurt al cromozomului 6. Forma precursor a TNF este

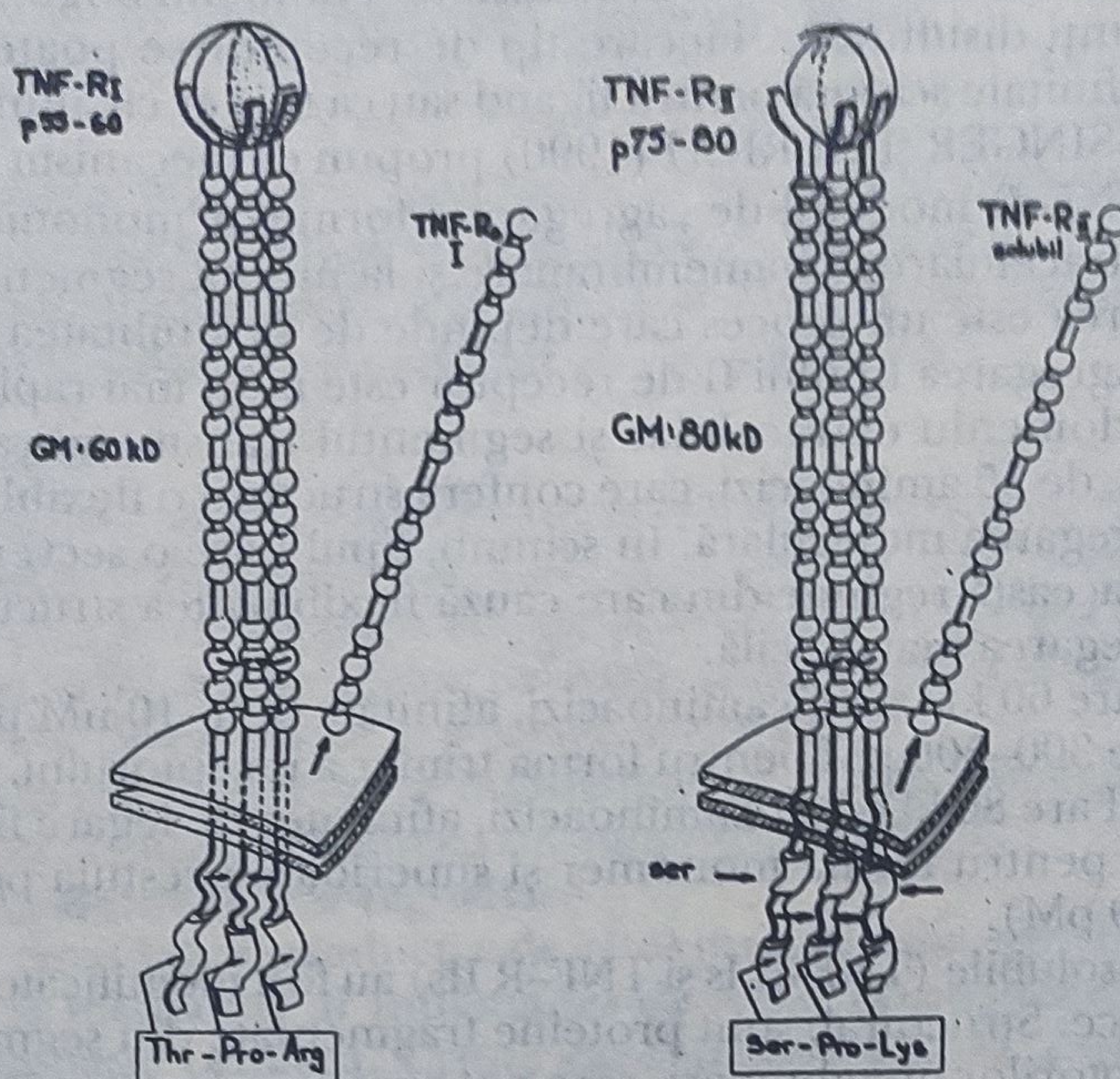


Fig. 21. Receptorii TNF–R de tip I și II.

exprimată membranar, iar proteoliza enzimatică anterioară secreției scindează un fragment de 17 kD (79 aminoacizii) la nivelul capătului carboxi-terminal care constituie forma matură solubilă. Aceasta apare în circulație ca homotrimer stabil de 51 kD.

RECEPTORII PENTRU TNF

S-au identificat două tipuri distincte de receptori de înaltă afinitate pentru TNF uman și anume TNF–R I și TNF–R II (fig .21).

Structura receptorilor a fost precizată de BROCKHAUS și LOETSCHER (1990) prin clonare moleculară, exprimarea genelor codificatoare și anticorpi monoclonal TNF–R I și II sunt distincte structural și antigenic, au afinități diferite pentru același ligand și mecanisme de semnalizare diferite. Au distribuție asemănătoare ca tip celular și densitate curpinsă între 1 000 și 10 000 receptori/celulă.

Segmentul extracelular este organizat în 4 domenii bogate în cisteină și legate prin punți disulfurice. Fiecare tip de receptor se poate prezenta ca monomer cu afinitate scăzută pentru ligand sau ca trimer cu afinitate crescută.

SCHLESSINGER și ULRICH (1990) propun ca mecanism de activare al receptorilor TNF–R modelul de „agregare a formelor monomer" la nivelul domeniilor extracelulare juxtamembranare și la nivelul segmentelor intracelulare. Agregarea este un proces care depinde de flexibilitatea segmentului extracelular. Agregarea tipului II de receptor este mult mai rapidă pentru că între ultimul domeniu extracelular și segmentul transmembranar există o secvență lungă, de 55 aminoacizi, care conferă structurii o flexiblitate mare ce favorizează agregarea moleculară. În schimb, tipul I are o secvență scurtă de aminoacizi în această regiune din care cauză flexibilitatea structurii este mai redusă, iar agregarea mai dificilă.

TNF–R are 60 kD și 433 aminoacizi, afinitate de 1–10 nM pentru forma monomer și de 300–500 pM pentru forma trimer a receptorului.

TNF–R II are 80 kD și 474 aminoacizi, afinitatea de legare fiind egală cu cea a tipului I pentru forma monomer și superioară acestuia pentru forma trimer (50–100 pM).

Formele solubile (TNF–R Is și TNF–R IIs) au fost identificate în ser și alte lichide biologice. Structural, sunt proteine fragmentate din segmentul extracelular al receptorilor membranari, care pot agrega în forme trimer pentru a forma complexe stabile cu TNF circulant. Receptorii solubili modulează activitatea TNF în cadrul răspunsului inflamator și inhibă efectul de stimulare a producției de PGE2 și colagenaze.

Segmentele intracelulare ale receptorilor membranari prezintă secvențe individuale de aminoacizi care sugerează mecanisme de semnalizare diferite. Segmentul intracelular al tipului I participă la activarea fosfolipazei C membranare și a tirozinkinazei și prezintă o secvență specifică de aminoacizii „Thr–Pro–Arg" cu rol în activarea proteinkinazei C. Segmentul intracelular al tipului II prezintă două situsuri potențiale de activare a proteinkinazei C, reprezentate de o secvență de 6 țesuturi de cisteină și respectiv de secvența „Ser–Pro–Lys".

THOMA și colaboratorii (1990) consideră ca fixarea TNF pe TNF–RII nu este suficientă pentru declanșarea răspunsului biologic. Deși tipul I are afinitate de legare mai mică, are rolul principal în exercitarea efectelor biologice ale TNF asupra celulelor „țintă". Acțiunea TNF se consideră completă dacă acționează simultan pe ambele tipuri de receptori de pe celula „țintă".

SURSE CELULARE

TNFα este produs de celulele mononuclear-fagocitare, limfocitele T–antigen activate, celulele NK și LAK, neutrofile, mastocite, celule endoteliale și astrocite. TNFβ este produs de limfocitele T helper activate.

EFECTE BIOLOGICE

Efectele majore ale TNF constau în medierea rezistenței organismului gazdă față de infecții precum și a răspunsului inflamator.

În cadrul răspunsului imunofiziologic al organismului la agenți infecțioși, TNF exercită efecte sistematice de tip „endocrin".

Limfocite

Prin acțiune asupra limfocitelor, TNF crește expresia receptorilor IL–2–R și stimulează producția de IFN, CSF, IL–2 și IL–4. Are rol de comitogen al timocitelor. Crește expresia moleculelor HLA clasa I și activitatea limfocitelor T citotoxice împotriva celulelor infectate viral. Acționând sinergic cu IL–1 și IL–2, TNF este costimulator al activării limfocitelor T.

Stimulează proliferarea limfocitelor B, crește expresia imunoglobulinelor membranare și producția de anticorpi circulanți.

Celule mononuclear-fagocitare

TNF stimulează producția de citokine inflamatorii (IL–1, IL–6, IL–8, GM–CSF) și mediatori ai inflamației de tipul prostaglandinelor, de către această populație celulară. Crește capacitatea citocidă a mononuclearelor activate în cursul inflamației.

Hepatocite

Alături de IL–1 și IL–6, TNF intervine în procesele de biosinteză de la nivelul hepatocitului prin alterarea sau stimularea transcripției genelor care codifică sinteza „proteinelor de fază acută". TNF crește concentrația de proteină C–reactivă cu rol de opsonină nespecifică în cadrul mecanismului de fagocitoză bacteriană; crește producția de α2-macroglobulină, protein- amiloid A și scade concentrația de albumină și siderofilină.

Sistem nervos central

Prin efect sinergic cu IL–1 și IL–6, TNF produce febră, somnolență și anorexie.

Celule endoteliale

TNF acționează pe celulele endoteliale ca mediator autocrin și paracrin. Crește expresia moleculelor de adeziune ICAM–1 și ICAM–2 (molecule de adeziune intercelulară–1 și 2), care la rândul lor sunt liganzi pentru integrinele prezente pe toate leucocitele. TNF stimulează producția „de novo" și expresia altor molecule de adeziune cum sunt E–selectinul și VCAM–1 (moleculă de adeziune intercelulară vasculară–1). Moleculele de adeziune exprimate de celulele endoteliale participă la „migrarea" leucocitelor spre sediul inflamației.

TNF stimulează metabolismul acidului arahidonic și producția de prostaglandine cu rol vasodilatator, proinflamator și procoagulant, precum și de

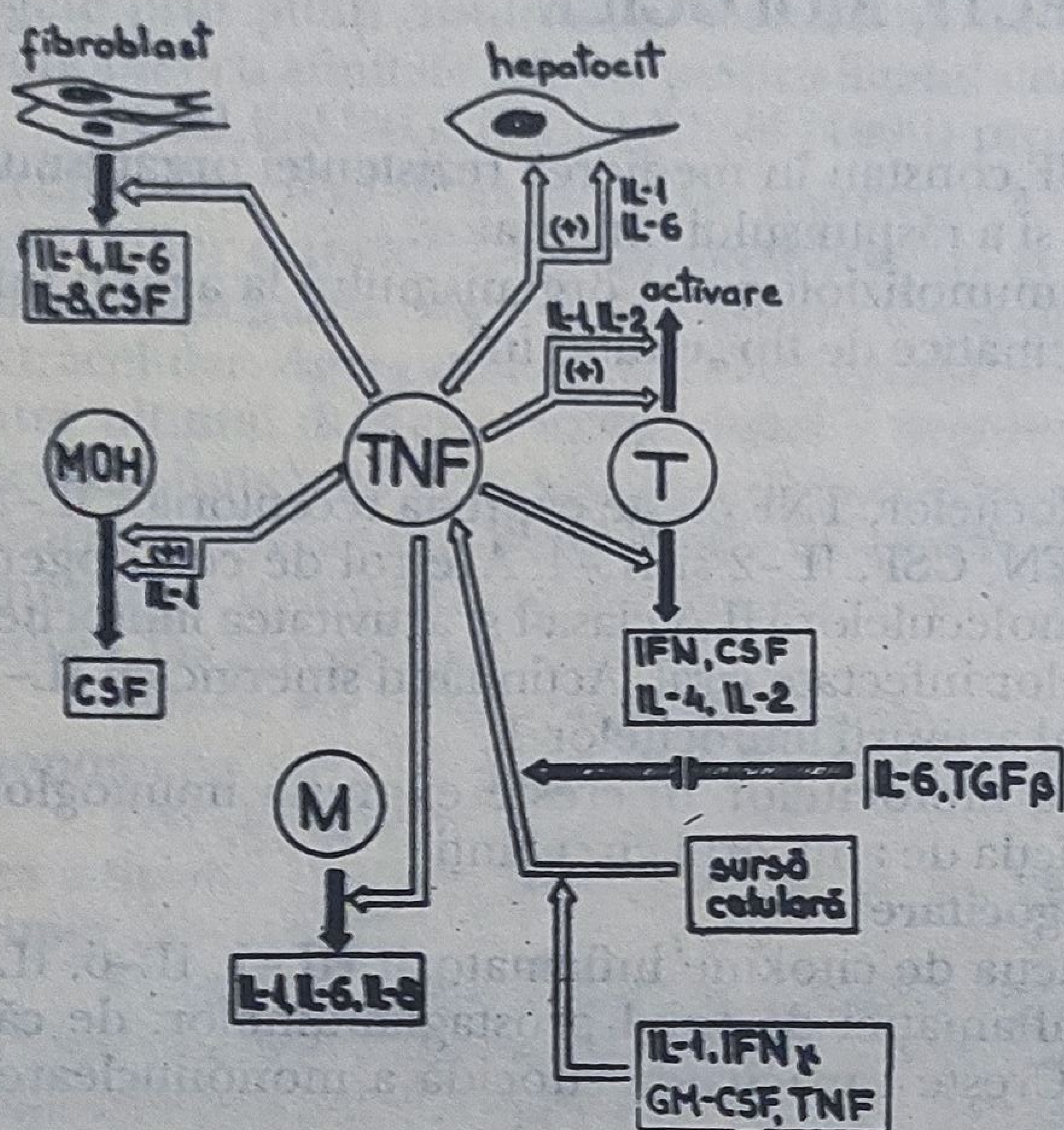


Fig. 22. Rolul TNF în stimularea producţiei de citokine.

oxid nitric. Prin eliberarea factorului activator plachetar (PAF), a factorilor inhibitori ai plasminogenului de către celulele endoteliale activate şi prin inhibiţia dizolvării polimerului de fibrină, TNF dezechilibrează activitatea procoagulantă şi anticoagulantă la nivelul endoteliului vascular. TNF este un factor mitogen al celulelor endoteliale stimulând angiogeneza.

Efectele TNF pe ţesutul osteo-cartilaginos, fibroblaşti, celule sinoviale şi hematopoetice sunt identice cu ale IL–1.

Prin numeroase verigi de interacţiune cu alte citokine TNF participă în „cascadă“ la răspunsul de „fază acută“ la stimuli inflamatori (fig. 22).

INTERLEUKINA 6

Interleukina 6 (IL–6) a fost definită iniţial ca o citokină cu acţiune antivirală drept pentru care s-a considerat un tip de interferon β2. Ulterior prin tehnici de recombinare s-a dovedit că IL–6 nu are nimic cu interferonii.

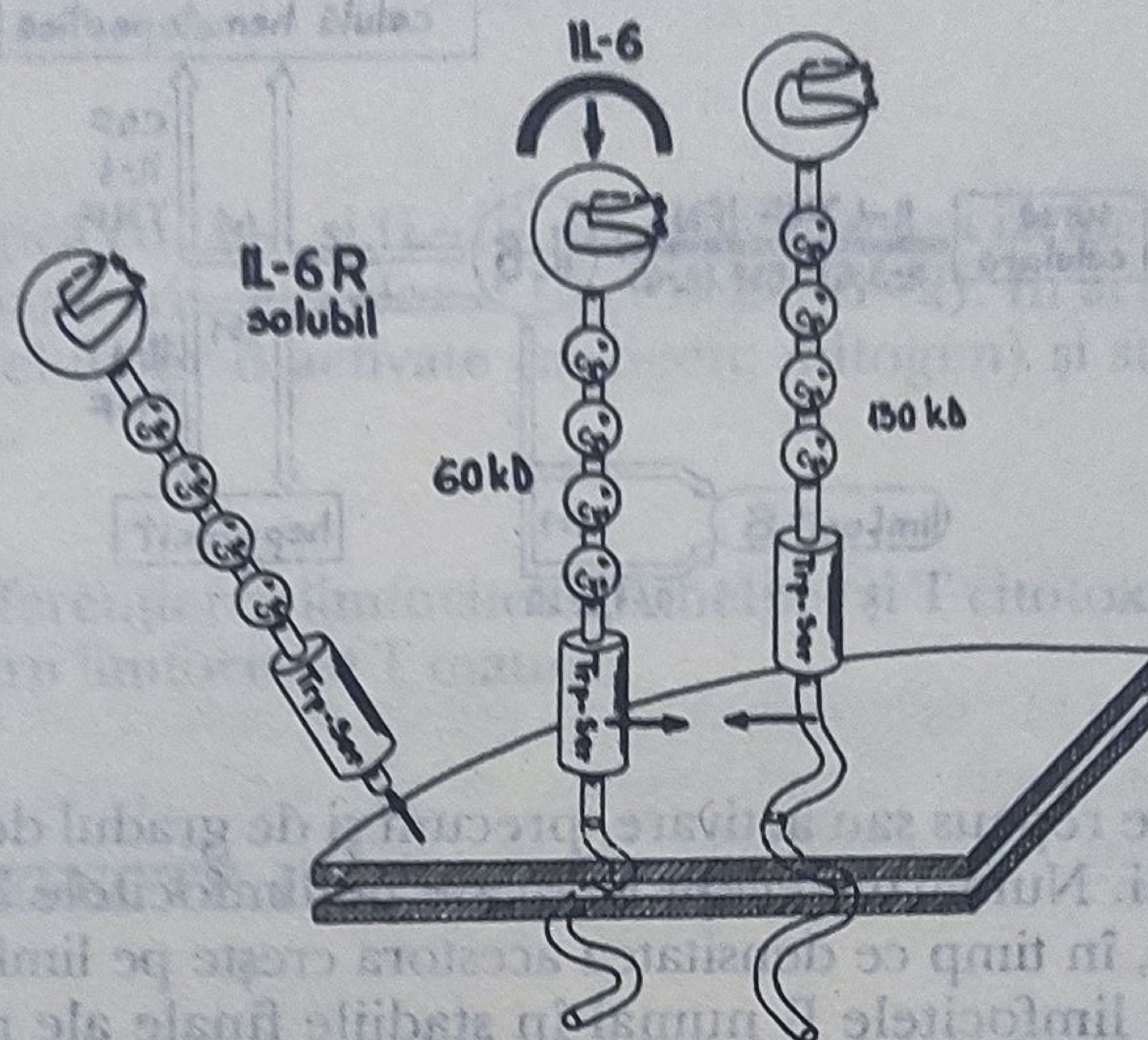


Fig. 23. Receptorul IL–6–R.

STRUCTURA MOLECULARĂ

IL–6 are greutate moleculară variabilă între 21 și 28 kD dependentă de gradul de glicozilare și de fosforilare a aceleiași proteine, dar care nu este esențial pentru activitatea biologică. Este codificată de o singură genă situată pe cromozomul 7 și alcătuită din 4 introni și 5 exoni.

RECEPTORUL PENTRU IL–6

Receptorul pentru IL–6 (IL–6–R) aparține familiei receptorilor hematopoetici. Este distribuit cu o densitate de 10^3–10^4 receptori/celula pe limfocitele B, T în repaus și activate, hepatocite, celule precursoare hematopoetice mielomonocitare, fibroblaști și celule mezangiale. Structural, IL–6–R este alcătuit din două subunități, de 60 kD și respectiv 130 kD (fig. 23). Cele două subunități se asociază noncovalent într-un complex de înaltă afinitate pentru IL–6 (40–70 pM). Expresia receptorului este dependentă de tipul celular,

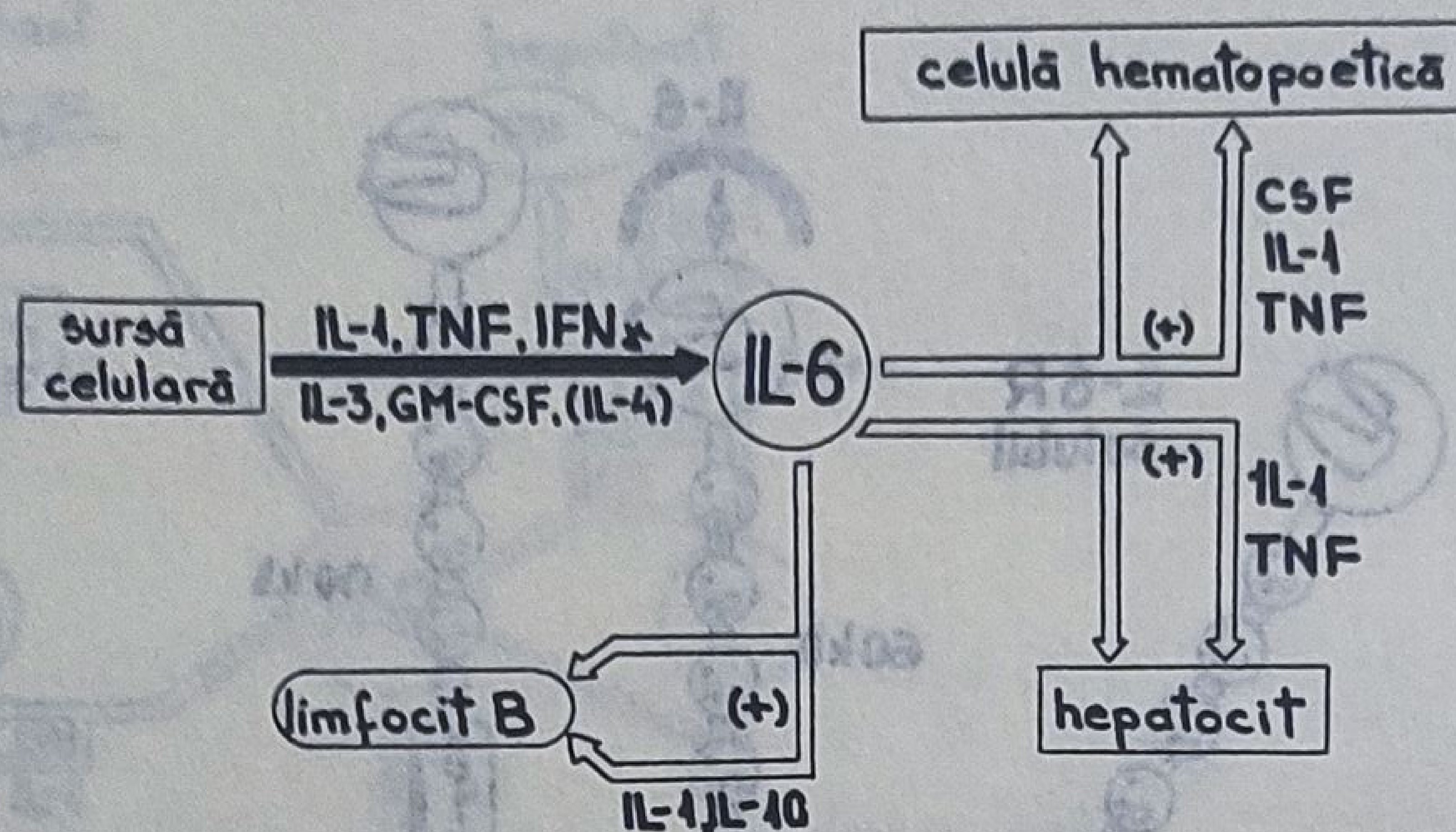


Fig. 24.

starea de repaus sau activare, precum și de gradul de diferențiere și maturare a celulei. Numărul receptorilor de pe limfocitele T scade în urma activării celulare, în timp ce densitatea acestora crește pe limfocitele B activate. IL–6–R apar pe limfocitele B numai în stadiile finale ale maturării acestei linii celulare. Expresia receptorilor, este crescută pe celulele mielomului multiplu ceea ce dovedește rolul interleukinei–6 în dezvoltarea acestei tumori.

IL–6–R prezintă o formă solubilă (IL–6–Rs) rezultată din proteoliza subunității de 60 kD.

Mecanismul de semnalizare intracelulară nu este complet cunoscut și spre deosebire de alți receptori nu activează tirozinkinaza.

SURSE CELULARE

IL–6 este produsă virtual, de toate tipurile celulare: limfocite, celule mononuclear-fagocitare, celule epiteliale și endoteliale, astrocite, fibroblasti și celule stromale ale măduvei hematogene.

EFECTE BIOLOGICE

IL–6 are acțiune pleiotropă cu rol în răspunsul imunologic, inflamator și hematopoeză, remarcabil fiind în acest sens sinergismul cu numeroase alte citokine (fig. 24).

EFECTE IMUNOLOGICE

Limfocite B

Prin acțiune sinergică cu IL–1 și IL–10, IL–6 acționează ca factor stimulator al diferențierii și maturării celulelor B (factor BCGF–2). În același timp este factor mitogen al celulelor B activate (antigen, mitogen) și stimulează producția de IgG, M și A.

Limfocite T

IL–6 stimulează diferențierea limfocitelor T helper și T citotoxice și este factor costimulator pentru limfocitele T mature.

EFECTE INFLAMATORII

În cadrul răspunsului inflamator, IL–6 stimulează producția „proteinelor de faza acută" prin sinteza hepatică (factor hepatocito-stimulator, HSF). Crește producția de proteină C-reactivă, α1-chemotripsina, α1-glicoproteină acidă și inhibă sinteza de albumine și prealbumine.

Acționează asupra hipotalamusului ca „factor pirogen endogen".

Stimulează activitatea fagocitară a leucocitelor și participarea acestora la citotoxicitatea celulară-anticorp dependentă (ADCC).

EFECTE HEMATOPOETICE

IL–6 este cofactor al diferențierii precursorilor hematopoetici din celula stem multipotența prin efect sinergic cu alte citokine, mai ales cu factorii de stimulare ai coloniilor celulare (CSF).

INTERLEUKINA 8

Interleukina 8 (IL–8) cuprinde o familie de 15 proteine înrudite care prin acțiuni biologice complexe îndeplinesc rolul de mediatori ai inflamației. Dintre acestea, pe lângă IL–8, mai fac parte: proteina–1 chemotactică a mono-

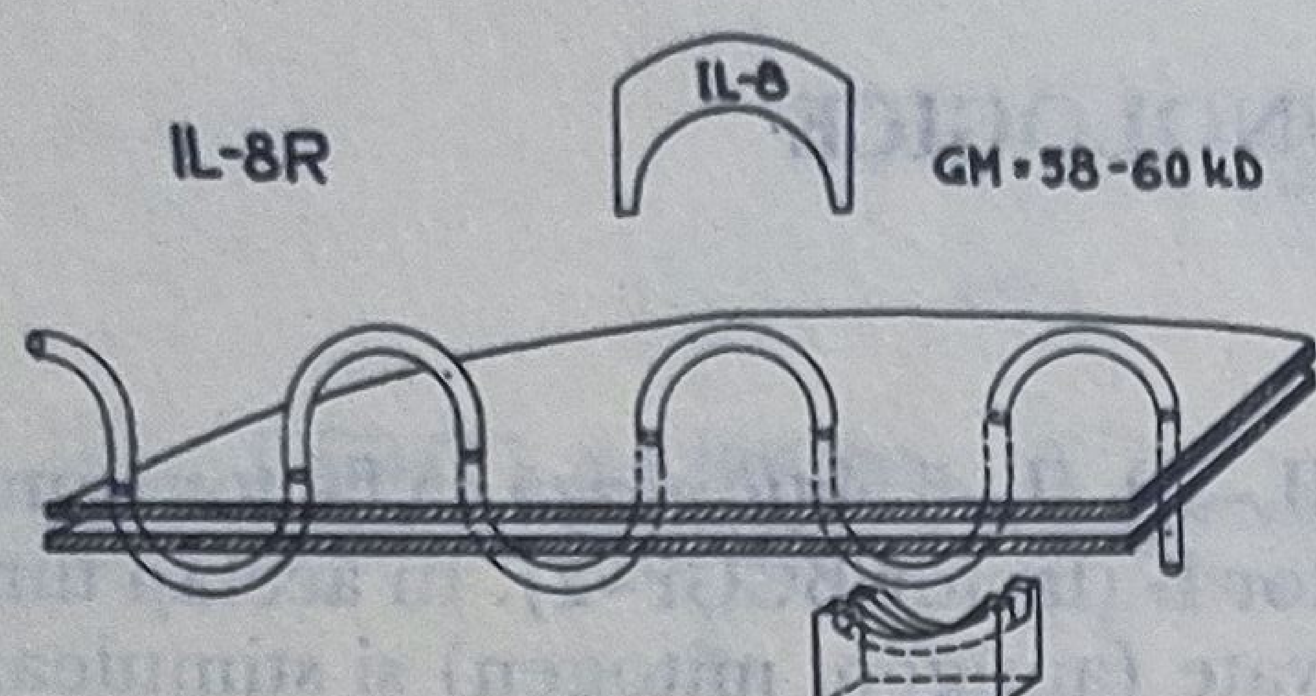


Fig. 25. Receptorul IL–8–R

citelor (MCP–1) specifică celulelor mononuclear-fagocitare, (factorul trombocitar 4, precum și proteina 10 indusă de interferon (IR 10).

STRUCTURA MOLECULARĂ

Membrii acestei familii cu greutate moleculară mică, cuprinsă între 8 și 10 kD, se prezintă sub forma monomeră sau dimeră. Fiecare proteină are aproximativ 72 aminoacizi și prezintă două punți disulfurice intramoleculare.

RECEPTORUL PENTRU IL–8

Se descriu două tipuri de receptori IL–8–R I și IL–8–R II, de 58–60 kD care se deosebesc prin secvența de aminoacizi și densitate celulară. Au aceeași afinitate de legare, de 0,1–4 nM precum și mecanism de semnalizare intracelulară comun (fig. 25). Ambele tipuri de receptori sunt distribuiți pe neutrofile, bazofile, monocite și limfocite T.

Mecanismul de semnalizarea intracelulară presupune creșterea concentrației citoplasmatice a ionului de calciu, activarea proteinelor G membranare precum și a proteinkinazei C. Fixarea IL–8 este urmată de internalizarea complexului ligand-receptor și scăderea expresiei receptorilor IL–8–R.

SURSE CELULARE

IL–8 este produsă de limfocitele T antigen activate, celule mononuclear-fagocitare, fibroblaști, celule endoteliale, epiteliale și trombocite. Producția de IL–8 este stimulată de IL–1, TNF și IL–6.

EFECTE BIOLOGICE

În cadrul familiei citokinelor proinflamatorii, IL–8, reprezintă cel mai puternic factor chemotactic pentru neutrofile și în mai mică măsură pentru eozinofile, bazofile și limfocite T. Activează neutrofilele și induce degranularea cu eliberare de lactoferină.

III. CITOKINE REGLATOARE ALE HEMATOPOEZEI

Familia de citokine cu rol în hematopoeza este alcătuită dintr-un grup heterogen de factori stimulatori ai formării coloniilor celulare (CSF) și de anumite interleukine cu efecte hematopoetice.

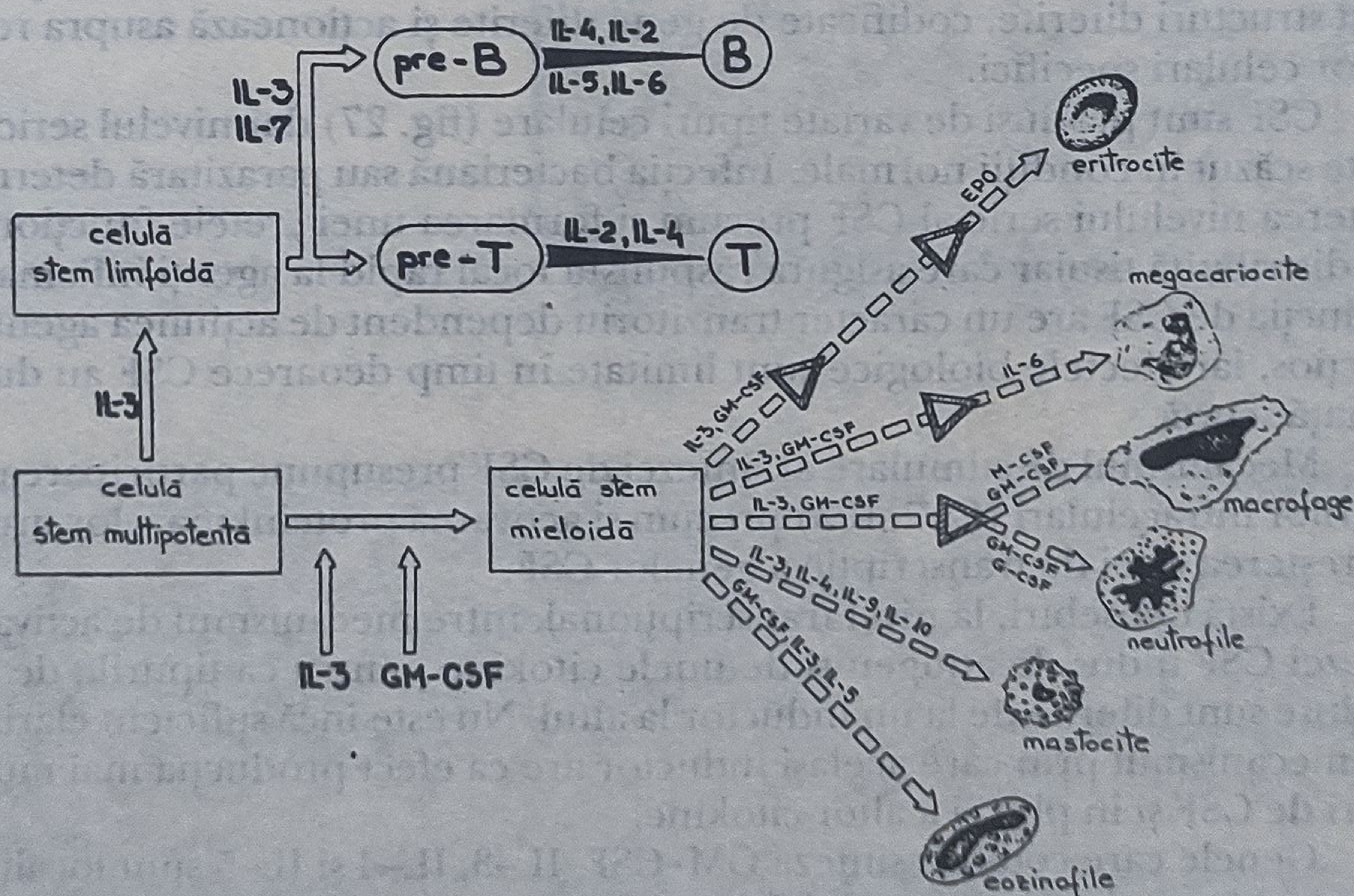


Fig. 26. Rolul factorilor de stimulare ai coloniilor celulare și a interleukinelor în hematopoeza.

Factorii stimulatori ai coloniilor celulare acționează asupra progenitorilor mieloizi și sunt reprezentați de: GM–CSF (factorul de stimulare a coloniilor de granulocite și macrofage), G–CSF (factorul de stimulare a coloniilor celulare granulocitare), M–CSF (factorul de stimulare a coloniilor celulare de monocite/macrofage) și Multi–CSF sau IL–3 (factorul multiplu de stimulare a formării coloniilor celulare hematopoetice. Acești factori hematopoetici numiți „clasici" nu au efecte asupra dezvoltării liniei celulare limfocitare. „Deficiența" este compensată prin acțiunea unor interleukine care asigură diferențierea și maturarea progenitorilor limfoizi, dar au efecte și asupra progenitorilor mieloizi. În acest sens acționează IL–1, IL–2, IL–4, IL–5, IL–6, IL–7, TNF și IFN (fig. 26).

A. FACTORII DE STIMULARE AI COLONIILOR CELULARE

Factorii de stimulare ai coloniilor celulare (CSF) formează un grup de proteine cu rol în reglarea producției și activității celulelor hematopoetice. Deși au aceleași efecte biologice, acești factori nu constituie o familie pentru că au structuri diferite, codificate de gene diferite și acționează asupra receptorilor celulari specifici.

CSF sunt produși de variate tipuri celulare (fig. 27) dar nivelul seric este foarte scăzut în condiții normale. Infecția bacteriană sau parazitară determină creșterea nivelului seric al CSF precum și formarea unei „rețele funcționale" larg distribuită tisular care asigură răspunsul local rapid la agenți inflamatori. Producția de CSF are un caracter tranzitoriu dependent de acțiunea agentului infecțios, iar efectele biologice sunt limitate în timp deoarece CSF au durată de viață scurtă.

Mecanismul de stimulare al sintezei de CSF presupune participarea mesagerilor intracelulari (Ca^{++}, IP3) precum și activarea proteinkinazelor urmată de creșterea ratei de transcripție a genelor CSF.

Există deosebiri, la nivel transcripțional, între mecanismul de activare a sintezei CSF indus de antigen și de unele citokine pentru ca tipurile de CSF produse sunt diferite de la un inductor la altul. Nu este încă suficient clarificat nici mecanismul prin care același inductor are ca efect producția mai multor tipuri de CSF și în plus și a altor citokine.

Genele care codifică sinteza GM–CSF, IL–3, IL–4 și IL–5 sunt localizate pe brațul lung al cromozomului 5 în regiunea genetică 5q21–q31. Pe același cromozom 5, în regiunea 5q33, sunt situate genele care codifică sinteza

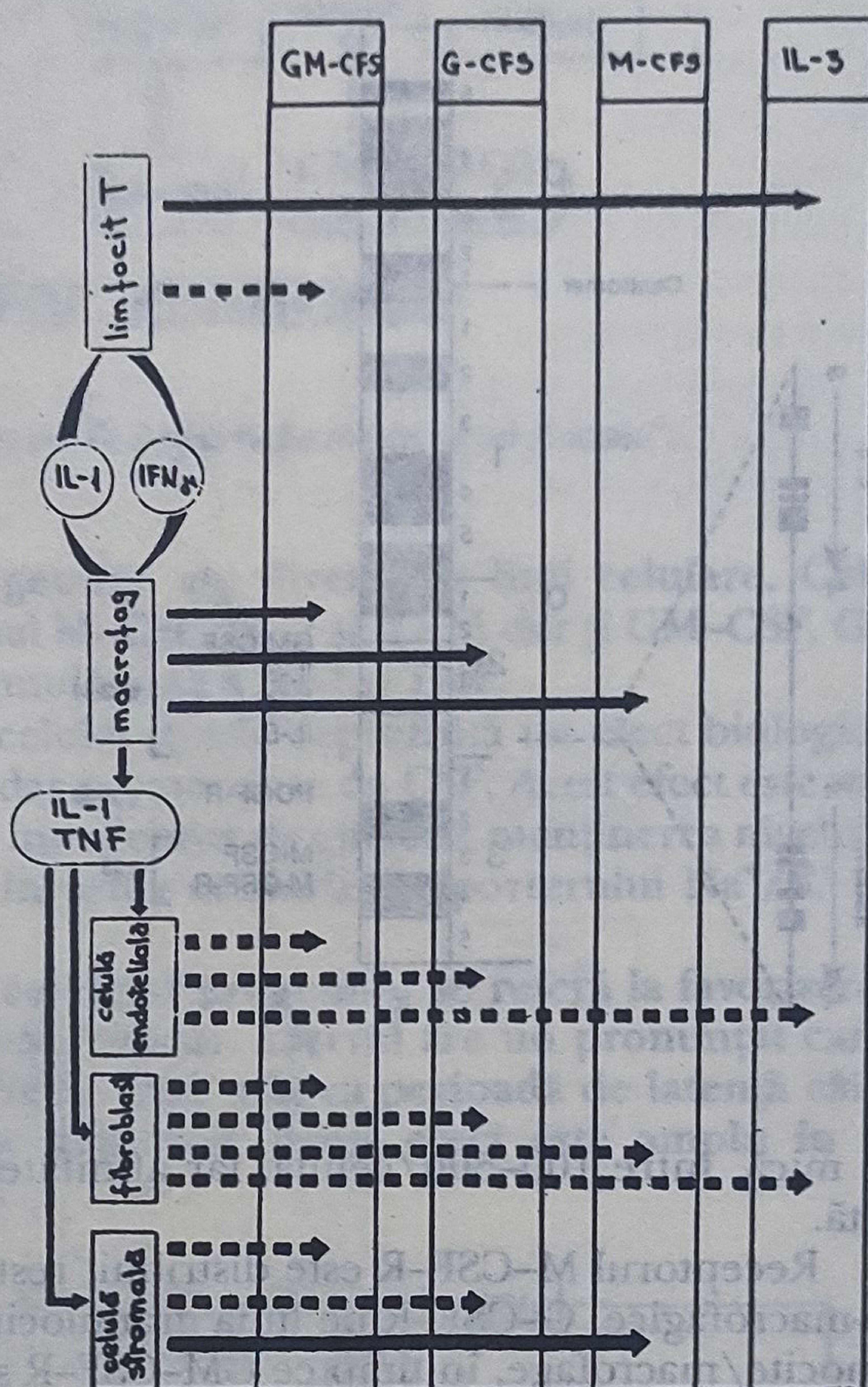


Fig. 27. Surse celulare ale CSF.

M–CSF și a receptorului sau (fig. 28). Gena care codifică sinteza G–CSF este situată pe cromozomul 17 (regiunea 17q21–q22).

Există posibilitatea unei transcripții „alternative a genelor CSF care alături de mecanismul îmbinării diferențiate a ARN–m, determină apariția unor forme moleculare distincte structural dar nu și funcțional. Se descriu două forme moleculare de GM–CSF rezultate prin transcripția „alternativă" a genelor și două forme moleculare de M–CSF rezultate prin îmbinarea diferențiată a ARN–m.

Receptorii pentru CSF (CSF–R) sunt proteine membranare care fac parte din familia receptorilor hematopoetinici (GM–CSF–R, G–CSF–R, IL–3–R) și din familia receptorilor tirozinkinazici M–CSF–R). Densitatea receptorilor

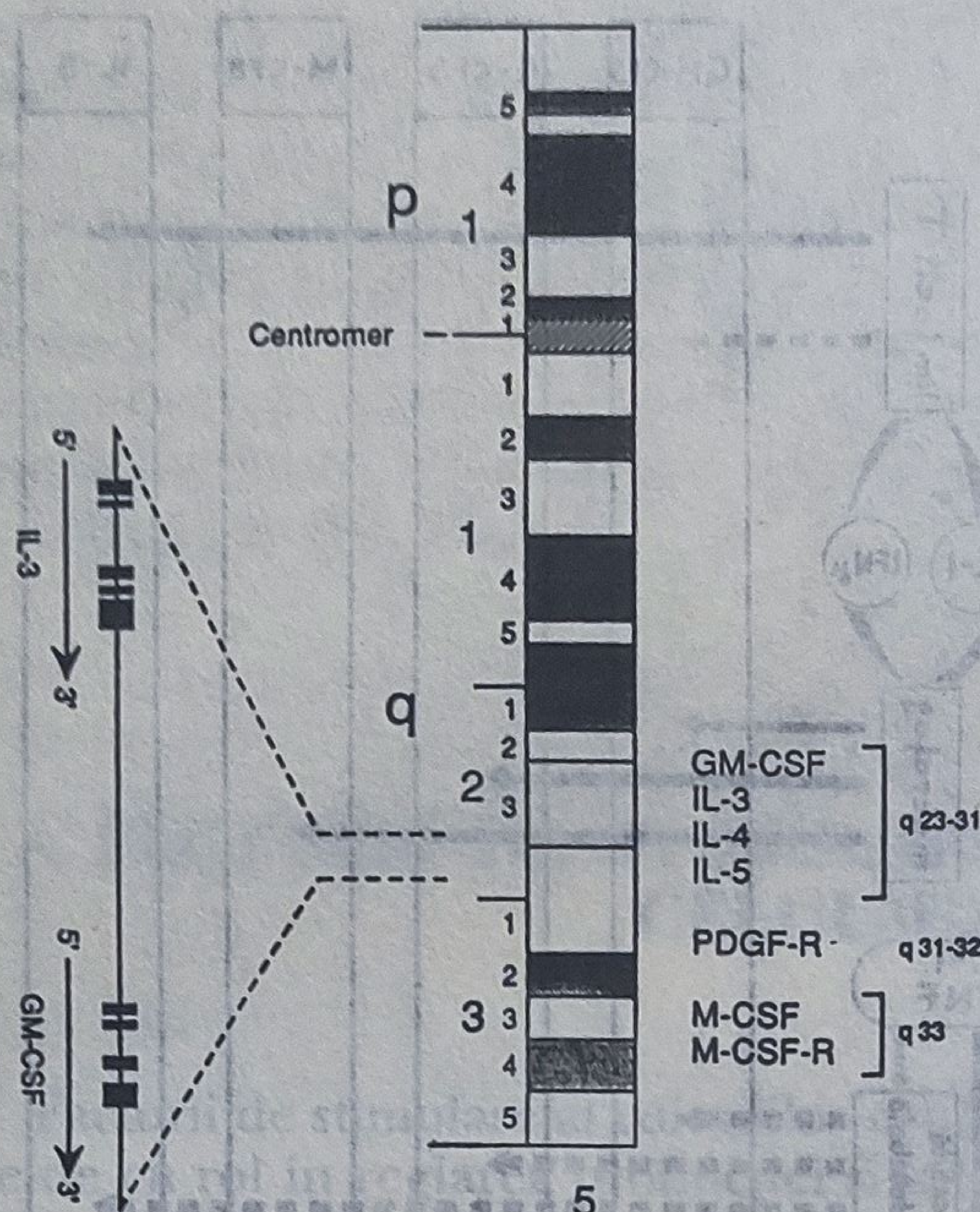


Fig. 28. Braţul lung al cromozomului 5.

este mică, între 100–500/celulă, iar afinitatea acestora pentru ligand este înaltă.

Receptorul M–CSF–R este distribuit restrictat pe celulele liniei monocito-macrofagice, G–CSF–R pe linia granulocitară neutrofilă şi mai puţin pe monocite/macrofage, în timp ce GM–CSF–R şi IL–3–R au o distribuţie celulară largă.

Mecanismele de semnalizare intracelulară presupun modificări conformaţionale reversibile ale segmentului intracelular, producţia de AMPc, activarea proteinkinazei C şi a tirozinkinazei.

Efectele biologice ale CSF asupra celulelor „ţinta" pot fi sistematizate în: prelungirea viabilităţii celulare, stimularea proliferării şi diferenţierii celulelor progenitor mieloide şi activarea celulelor hematopoetice mature. Factorii stimulatori ai coloniilor alături de interleukine sunt implicaţi în reglarea hematopoezei „bazale" (fig. 29) dar şi a hematopoezei „induse" (fig. 30) de prezenţa agentului inflamator.

În cadrul hematopoezei „bazale" un rol deosebit revine celulelor stromale care prin citokinele produse stimulează crearea şi diferenţierea celulelor progenitor. Celulele stromale participă la creşterea micromediului de desfăşurare a hematopoezei şi asigură prin moleculele de suprafaţă exprimate

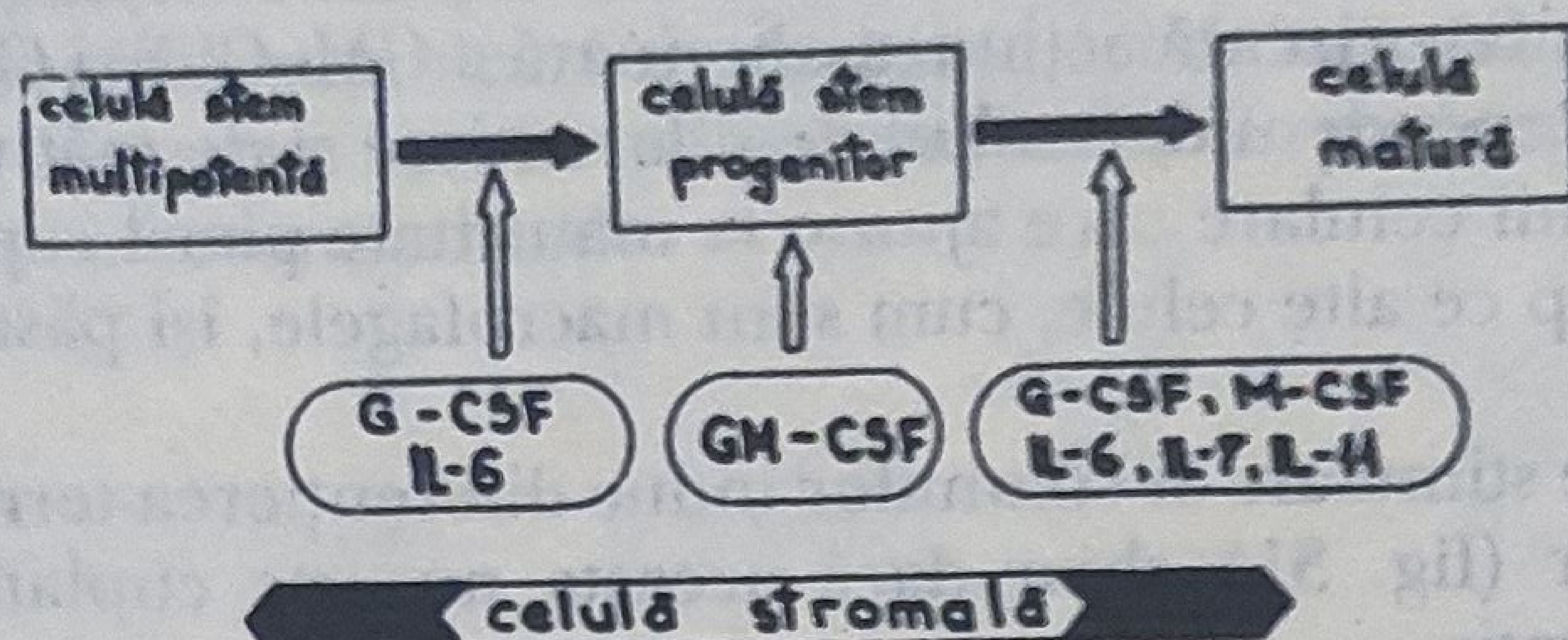


Fig. 29. Citokine cu rol în reglarea hematopoezei „bazale".

contactul între celulele progenitor ale diverselor linii celulare. Celulele stomale produc în mod normal M–CSF, IL–7 și IL–11 dar și GM–CSF, G–CSF și IL–6 numai sub acțiunea stimulatoare a IL–1 și TNF.

Menținerea viabilității celulei „țintă" reprezintă un efect biologic care necesită concentrații scăzute dar permanente de CSF. Acest efect este mediat prin favorizarea transportului intracelular de glucoză, menținerea nivelului de ATP și a pH-ul intracelular în urma activării antiporterului Na^{+}/K^{+} membranar.

Stimularea proliferării celulelor progenitor se referă la favorizarea intrării celulei în faza S a ciclului celular. Efectul are un pronunțat caracter heterogen de la un factor CSF la altul, atât ca perioadă de latență cât și ca număr de celule progenitor generate. Acest efect este amplu în cazul

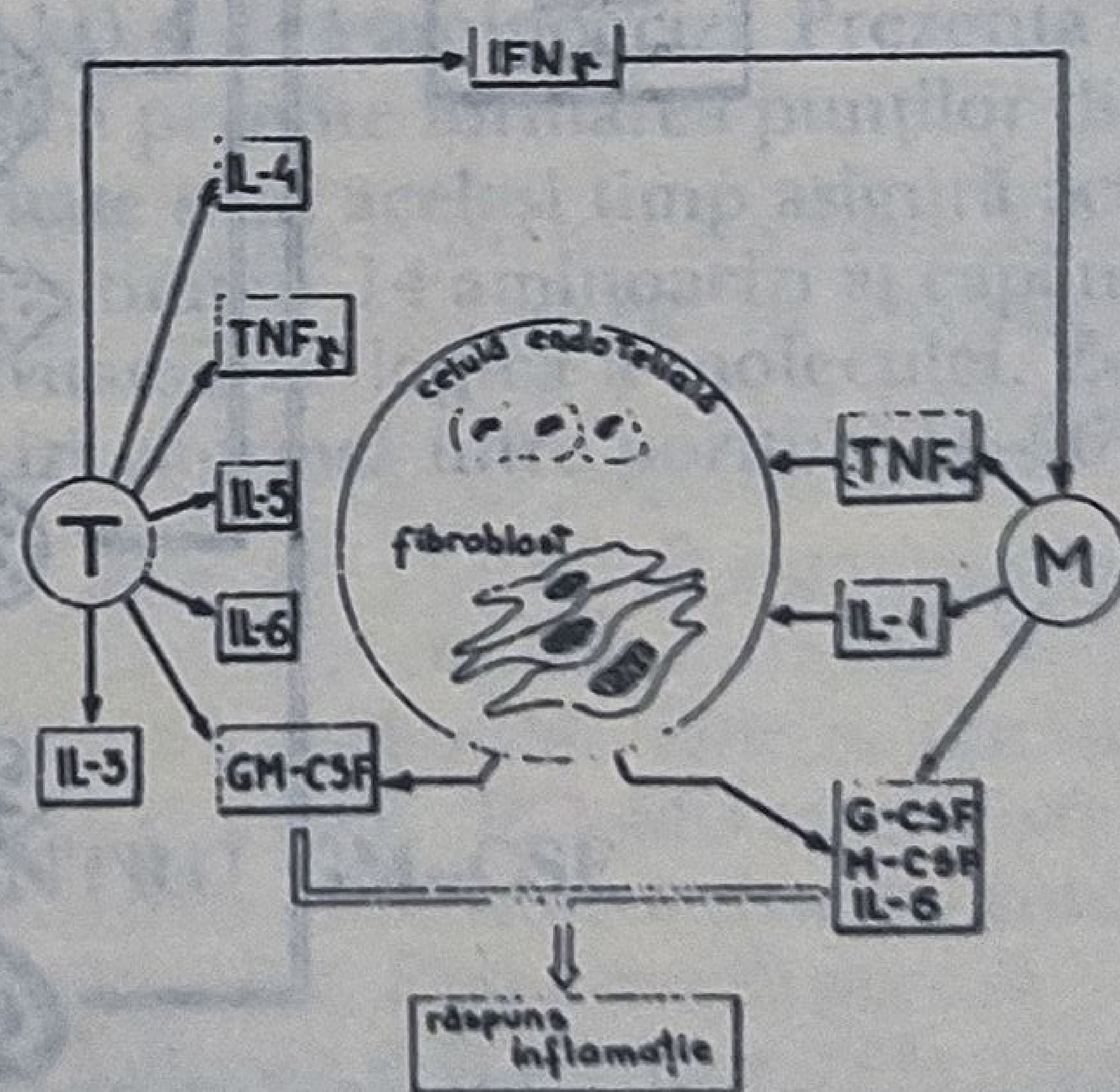


Fig. 30. Citokine cu rol în reglarea hematopoezei „induse".

prezenţei simultane a IL–3, GM–CSF şi IL–1. Acţiunea iniţială a IL–3 pe celulele progenitor favorizează acţiunea ulterioară a GM–CSF şi G–CSF. Efectul stimulator este dependent de stadiul de diferenţiere şi de măturare a celulei „ţinta". Există linii celulare care ajunse la maturitate pierd capacitatea de a prolifera, în timp ce alte celule, cum sunt macrofagele, îşi păstrează această capacitate.

Factorii de stimulare ai coloniilor induc diferenţierea terminală a celulelor progenitor (fig. 31) chiar dacă aceasta nu este cuplată genetic cu procesul proliferativ.

Efectele biologice ale CSF se exercită şi în cazul administrării „in vivo". Comparativ cu alte citokine efectele nedorite ale administrării „in vivo" sunt mult mai puţin severe şi se traduc prin dureri osoase, flebite, edeme, urticarie,

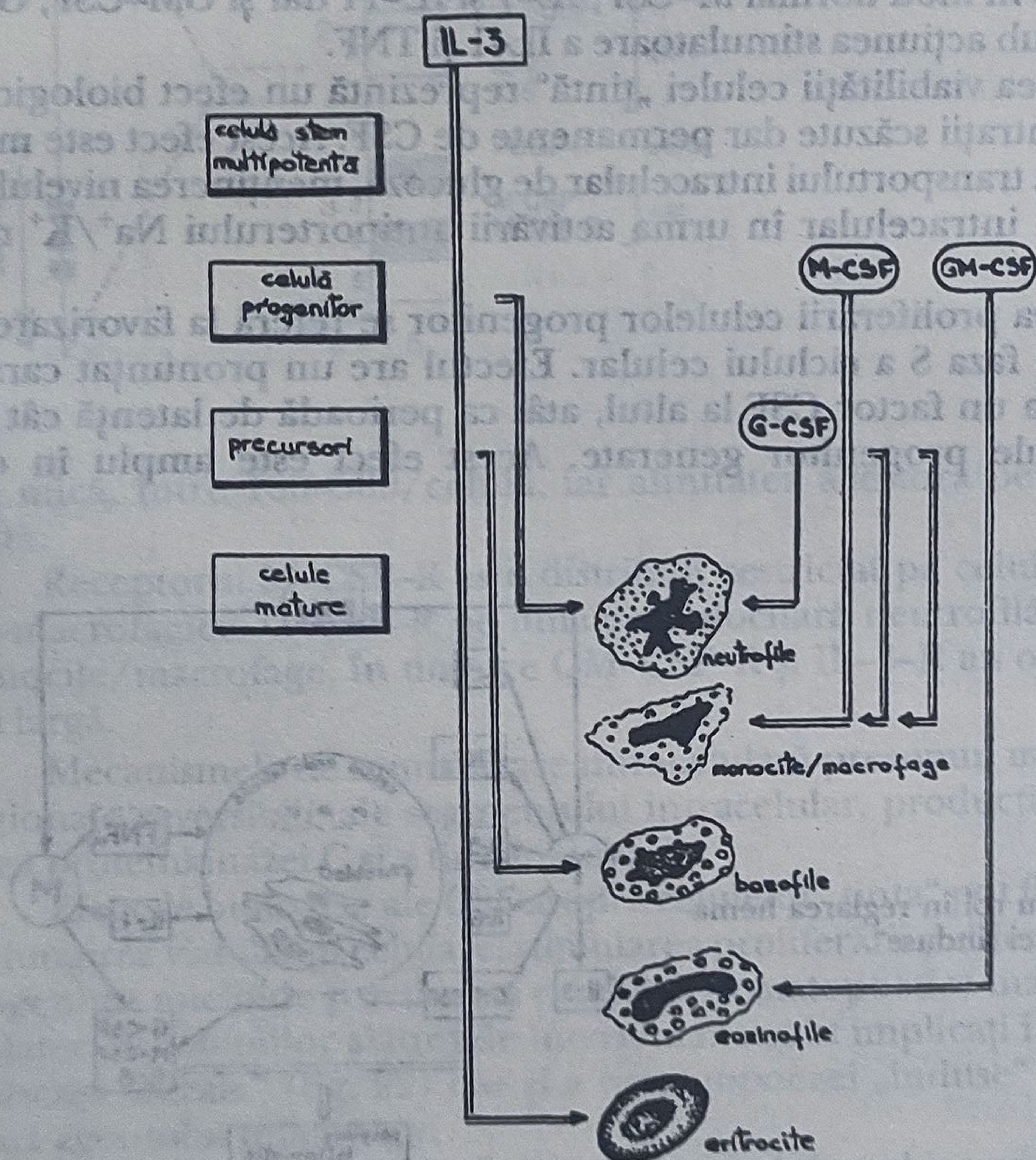


Fig. 31. Efectul CSF asupra diferenţierii terminale a celulelor progenitor.

febră, toate legate de administrarea în doze mari și prelungite. Factorii de stimulare ai coloniilor stimulează proliferarea celulelor mieloide leucemice, de aceea administrarea lor în scop terapeutic la pacienții cu sindrom mielodisplazic este contraindicată.

FACTORUL DE STIMULARE A COLONIILOR CELULARE GRANULOCITARE ȘI MACROFAGICE

Factorul de stimulare a coloniilor celulare granulocitare și macrofagice (GM–CSF) denumit și CSF–α sau pluripoetina–α are efect pleiotrop prin acțiune pe celula stem multipotentă din măduva hematogenă și orientează progenitorii mieloizi imaturi spre populația de celule mononuclear-fagocitară și granulocite.

STRUCTURA MOLECULARĂ

GM–CSF este un monomer de 22 kD și 144 aminoacizi. Prezența resturilor de cisteină în secvența polipeptidică permite formarea punților disulfurice care conferă monomerului stabilitate și în același timp asigură activitatea biologică a citokinei. Îndepărtarea ultimilor 14 aminoacizi ai capătului amino-terminal scade considerabil activitatea biologică a moleculei. Zona activă corespunde secvenței de aminoacizi cuprinsă între pozițiile 14–96 ale lanțului polipeptidic.

RECEPTORUL PENTRU GM–CSF

Receptorul pentru GM–CSF (GM–CSF–R) a fost identificat pe suprafața celulelor progenitor umane prin utilizare de liganzi marcați radioactiv (I^{125}). Face parte din familia receptorilor hematopoetinici și are structură proteică,

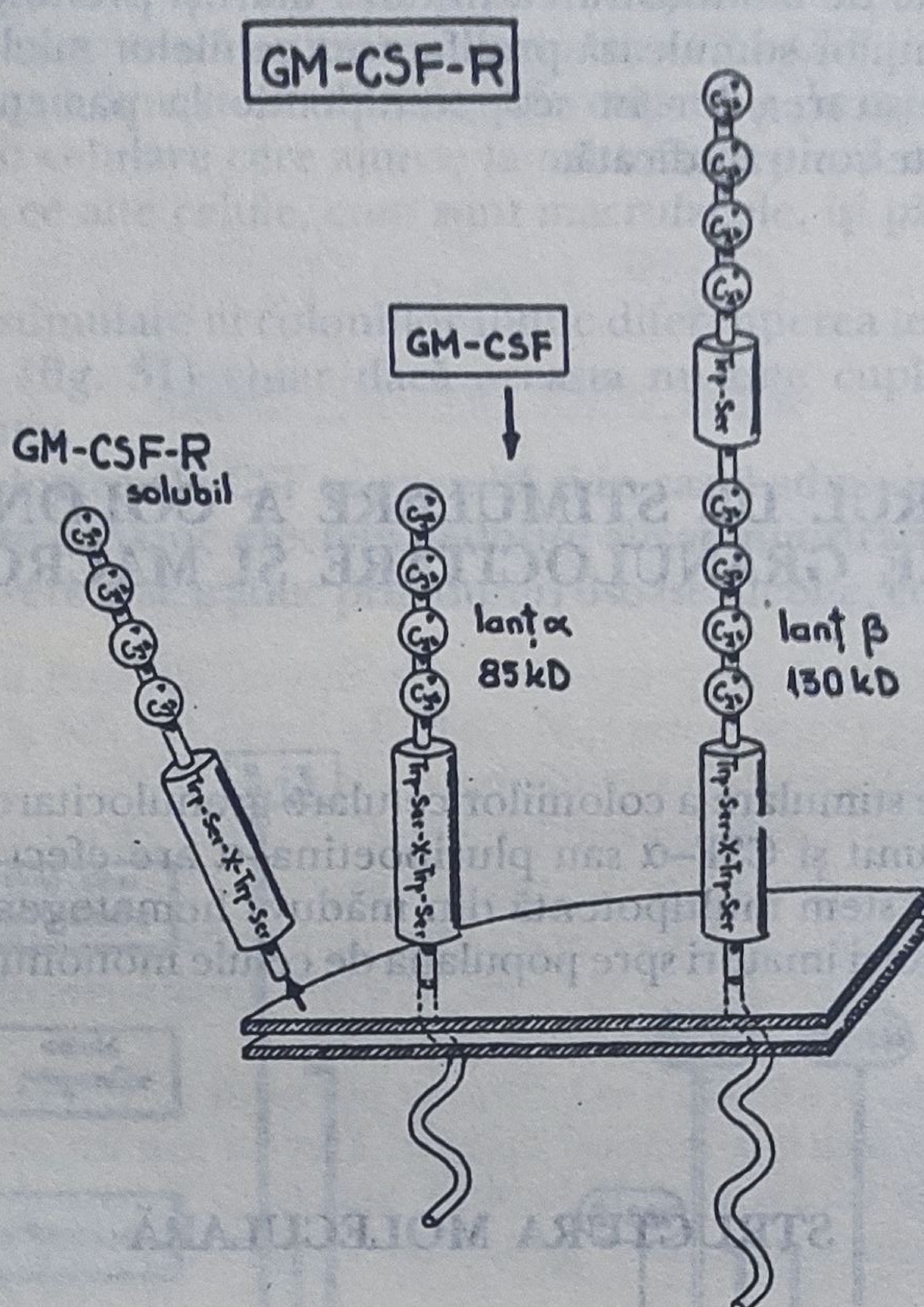


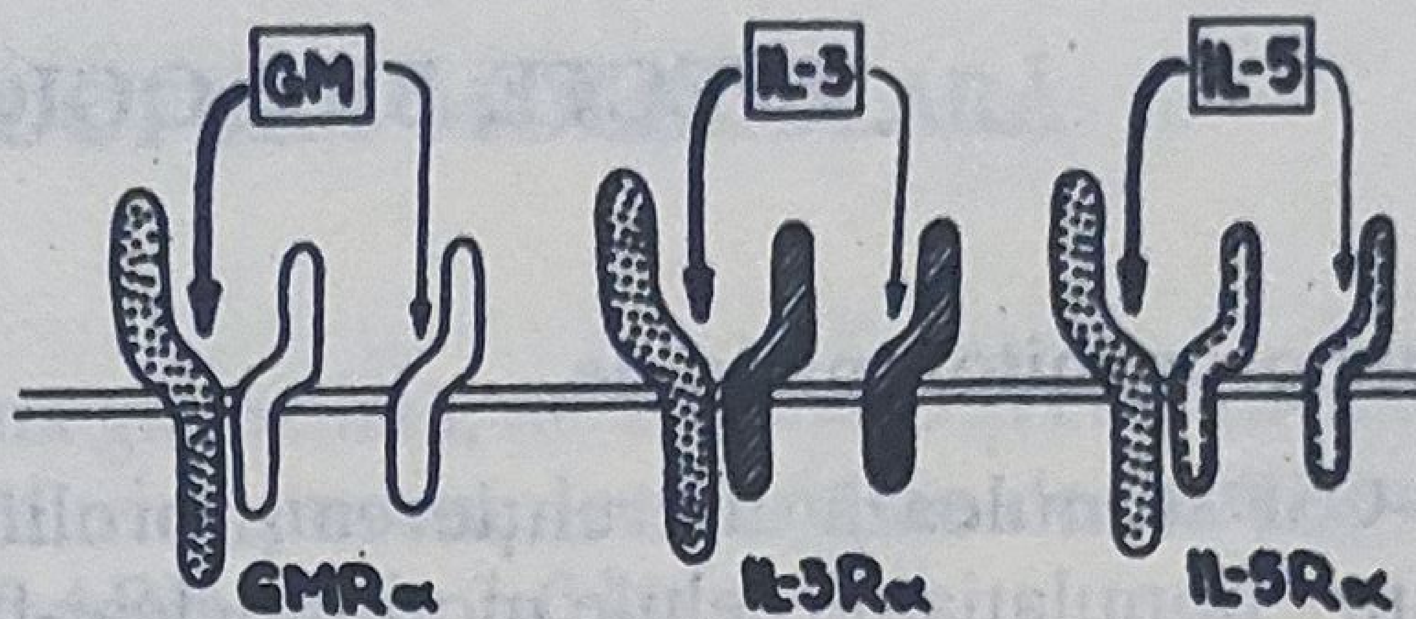
Fig. 32. Receptorul GM–CSF–R.

dimeră, alcătuită din nouă subunităţi α şi β (fig. 32). Este distribuit pe celulele precursoare mieloide, monocite/macrofage, granulocite, trombocite, celule endoteliale şi celule Langerhans.

Subunitatea α, de 85 kD, este specifică şi are afinitate mică, de 1–8 nM, iar subunitatea β, de 130 kD, este comună structurii receptorilor IL–3–R şi IL–5–R, aşa cum este prezentat în fig. 33. Are afinitate mare, de 3–100 pM. Existenţa acestei subunităţi explică competiţia încrucişată de fixare pe receptori între GM–CSF, IL–3 şi IL–5. Ocuparea receptorului de către un tip de citokină împiedică exercitarea efectelor biologice ale citokinelor competitoare.

Forma dimeră α/β a receptorului GM–CSF–R rezultă prin asocierea necovalentă a subunităţii α specifice cu subunitatea β comună. Complexul α/β este distribuit cu densitate mică (100–500/celulă) pe celule mature: neutrofile, macrofage, eozinofile dar şi pe suprafaţă progenitorilor acestora. Complexul α/β distribuit pe neutrofilele mature fixează cu afinitate mare numai

Fig. 33.



GM–CSF și nu leagă IL–3 și IL–5. În schimb, complexul α/β exprimat pe monocite/macrofage leagă numai GM–CSF și IL–3, iar cel distribuit pe eozinofile toți competitorii, preferențial GM–CSF, IL–3 și apoi IL–5. În prezența unui singur competitor, complexul α/β fixează cu afinitate mai mare IL–3, dar în prezența tuturor competitorilor afinitatea este mai mare pentru GM–CSF. Dacă GM–CSF se fixează mai rapid, IL–3 se disociază mai greu de pe receptor, existând deosebiri în abilitatea competitorilor de a iniția și menține răspunsul celular. Concentrații mici de competitori stimulează proliferarea celulei „țintă" în timp ce concentrații mari stimulează activarea acesteia.

Lanțul β asigură receptorului afinitate mai mare de fixare a ligandului și este mediatorul principal al semnalului intracelular. Există în structura lanțului β o poziție extrem de importantă pentru afinitatea receptorului și anume aminoacidul glutamina (GLU) din poziția 21 pentru GM–CSF–R, 22 pentru IL–3–R și poziția 10 pentru IL–5–R, a lanțului polipeptidic. Substituirea acestui aminoacid are ca rezultat diminuarea considerabilă a afinității și activității receptorului.

Expresia complexului α/β scade în urma fixării GM–CSF și IL–3 pe receptorii de pe suprafața celulelor progenitor hematopoetice și neutrofile.

Există o formă solubilă (GM–CSF–Rs) rezultată prin imbinarea diferențiată a ARN–m. Prin fixarea GM–CSF circulant, forma solubilă are rolul de a inhiba legarea acestuia de receptorii membranari, dar în același timp funcționează ca moleculă transportoare a GM–CSF la nivelul țesutului „țintă". Receptorul solubil este eliberat în matricea extracelulară ca factor implicat în creșterea și dezvoltarea granulocitelor și macrofagelor.

Mecanismul de semnalizare intracelulară mediat de subunitatea β presupune activarea tirozinkinazei.

SURSE CELULARE

GM–CSF este produs de limfocite T, celule endoteliale, fibroblaști și macrofage activate.

EFECTE BIOLOGICE

Celule progenitor mieloide

GM–CSF stimulează diferențierea și proliferarea celulelor progenitor mieloide spre populația de celule mononuclear-fagocitare și neutrofile, dar și a altor progenitori din seria eritrocitară și megacariocitară. Stimulează viabilitatea progenitorilor mieloizi și a celulelor mature ale acestei serii.

Neutrofile mature

O parte din efectele GM–CSF asupra neutrofilelor mature sunt sinergice cu ale G–CSF și au un caracter adițional. GM–CSF stimulează adeziunea și chemotactismul, dar concentrații mari pot determina inhibiția migrării neutrofilelor. Stimulează activarea neutrofilului în prezența produselor bacteriene sau imunologice, funcția de fagocitoză și capacitatea bactericidă prin producția de radicali liberi ai oxigenului și de IL–1 în cadrul răspunsului inflamator.

Eozinofile

GM–CSF stimulează capacitatea eozinofilului de a distruge paraziții prin producția de anion superoxid și leucotriene și crește expresia moleculelor de adeziune.

Macrofage

Prin efect sinergic cu M–CSF, GM–CSF stimulează proliferarea macrofagelor și eliberarea de activator al plasminogenului, PGE, IFN, IL–1 și TNF.

FACTORUL DE STIMULARE A COLONIILOR CELULARE MONONUCLEAR-FAGOCITARE

Factorul de stimulare a coloniilor de mononucleare (M–CSF) acționează la nivelul măduvei hematogene asupra progenitorilor mieloizi prin stimularea diferențierii și proliferării acestora în monocite și macrofage mature.

STRUCTURA MOLECULARĂ

M–CSF este o proteină glicozilată, de 15–30 kD și conformație dimerică menținută prin punți disulfurice intramoleculare. Se descriu două forme de M–CSF transcrise în lanțuri ARN–m de 1,6 kb și 4 kb.

Precursorul formei transcrise în lanț ARN–m scurt are greutate moleculară mică și este reprezentat de un lanț polipeptidic de 250 aminoacizi. Prezintă o secvență „leader“ de 32 aminoacizi la capătul aminoterminal, urmată de o secvență transmembranară (23 aminoacizi) și respectiv intracelulară (3 aminoacizi), care asigură inserția structurii în membrana celulară. Activarea precursorului presupune clivajul enzimatic al secvenței „leader“ sub acțiunea unei proteaze specifice. Forma matură rezultată, de 68 kD, este exprimată de homodimer transmembranar. Prin hidroliza enzimatică a secvenței de aminoacizi în poziția 158 se eliberează forma circulantă a M–CSF, de 44 kD.

A doua formă de M–CSF, cu greutate moleculară mare, are precursorul transcris în lanțul ARN–m lung. Acest precursor diferă de cel al formei moleculare mici prin prezența unei secvențe de 298 aminoacizi adiționate lanțului polipeptidic. Forma matură apare prin proteoliza precursorului, în poziția 191–218 a lanțului polipeptidic adiționat și se prezintă, de asemenea, sub forma de homodimer transmembranar. Clivajul enzimatic se face mult mai rapid iar forma matură se formează înainte de exprimarea membranară. M–CSF cu greutate moleculară mare prezintă o formă solubilă, circulantă, de 70 kD.

Deși sunt exprimate diferit pe suprafața diverselor tipuri celulare, cele două forme de M–CSF nu prezintă deosebiri în activitatea biologică pentru ca segmentul structural activ corespunde secvenței de aminoacizi 1–158 a lanțului polipeptidic.

Controlul producției de M–CSF este mediat prin reglarea nivelului și activității proteazelor specifice care transformă precursorul în forma matură.

RECEPTORUL PENTRU M–CSF

Receptorul pentru M–CSF (M–CSF–R) a fost identificat inițial ca factor de activare a genei oncogene virale (c–fms). Este distribuit pe monocite/macrofage și precursorii acestei linii celulare dar și pe celulele trofoblastului placentar. Densitatea receptorilor membranari este de 10^3–20^3/celulă, iar afinitatea de legare variază între 0,2 și 0,4 nM. Prin organizarea segmentului

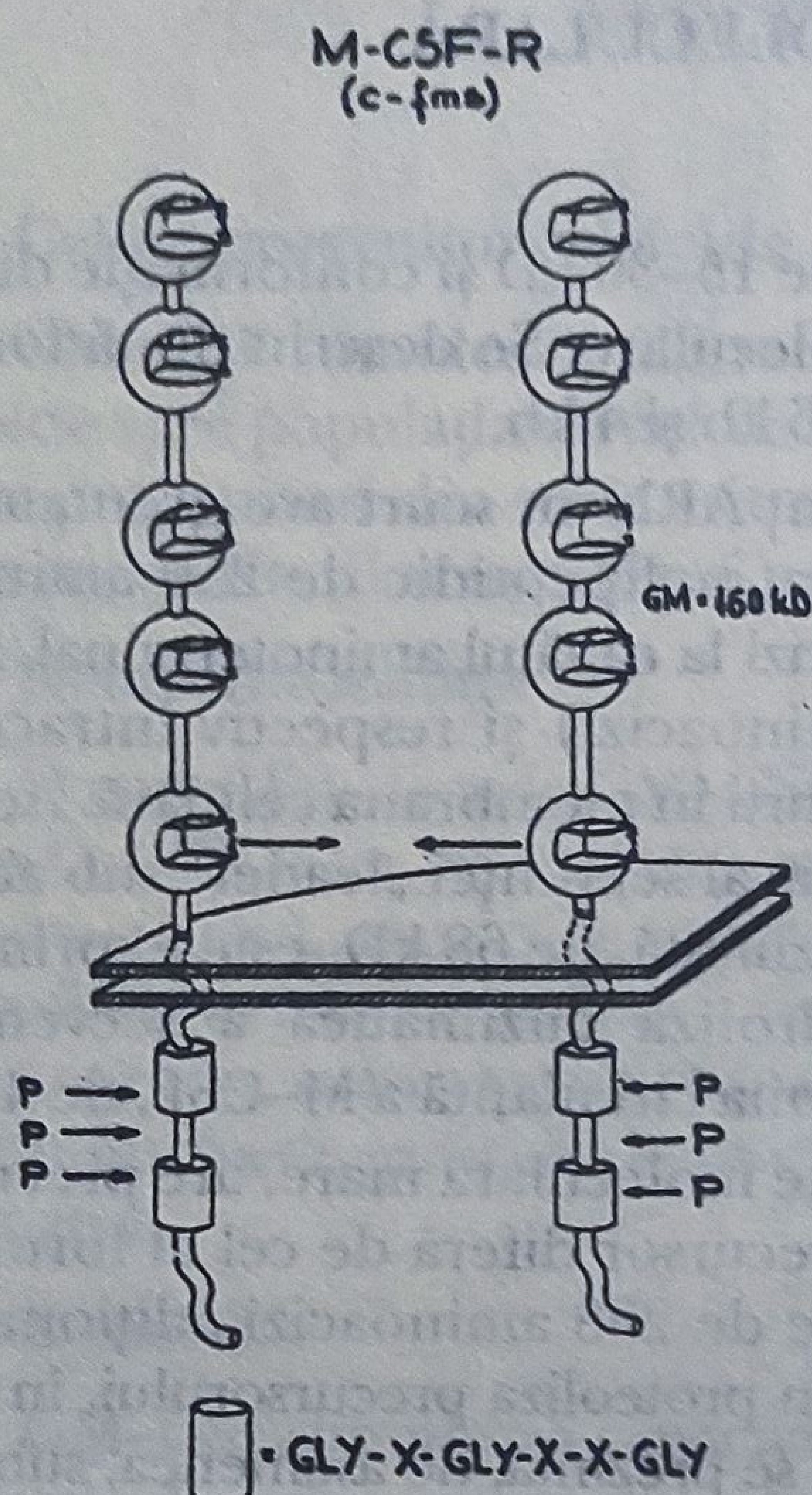


Fig. 34. Receptorul M–CSF–R.

extracelular, M–CSF–R face parte din familia receptorilor cu structura imunoglobulinică iar prin cea a segmentului intracelular și mecanismul de semnalizare aparţine familieireceptorilor tirozinkinazici (fig. 34). Activarea corespunde dimerizării receptorului, iar „ocuparea" sa este urmată de scăderea expresiei acestuia prin internalizarea complexului ligand-receptor.

Mecanismul de semnalizare intracelulară este reprezentat de activarea tirozinkinazei care fosforilează segmentul intracelular la nivelul poziţiilor Tyr–697; 706; 807 precum și unele proteine intracelulare (p30, p50, p57 etc.).

SURSE CELULARE

M–CSF este produs de fibroblaști, macrofage activate, celule stromale ale măduvei hematogene, celule epiteliale și celule ale endometrului uterin în cursul sarcinii.

EFECTE BIOLOGICE

M–CSF are acțiune restrictată pe progenitorii mieloizi în sensul stimulării diferențierii și proliferării acestora spre linia celulară mononuclear-fagocitară. Acționează asupra macrofagului matur stimulând proliferarea celulară prin efect sinergic cu GM–CSF și IL–3, creșterea producției de IL–1, TNF și a capacității citotoxice.

FACTORUL DE STIMULARE A COLONIILOR CELULARE GRANULOCITARE

Factorul de stimulare a coloniilor granulocitare (G–CSF) sau CSF – β este o citokină cu funcție restrictată care stimulează diferențierea și proliferarea celulelor progenitor mieloide spre linia granulocitară neutrofilă.

STRUCTURA MOLECULARĂ

G–CSF este un monomer glicoproteic de 19 kD și secvență de 172 aminoacizi constantă în proporție de 75% și asemănătoare interleukinei 6. Se prezintă sub două forme moleculare rezultate prin îmbinarea diferențiată a ARN–m, care diferă prin inserția unui tripeptid în pozițiile 35 și 36 ale lanțului polipeptidic.

RECEPTORUL PENTRU G–CSF

Receptorul pentru G–CSF (G–CSF–R) aparține familiei receptorilor hematopoetinici. Este reprezentat de un singur lanț polipeptidic de 150 kD al cărui segment extracelular este organizat în trei domenii: primul domeniu are structura imunoglobulinică, al doilea este bogat în cisteină și al treilea este reprezentat de secvența Trp-Ser-x-Ser (fig. 35). Receptorul este distribuit pe

granulocite, celule stem multipotente, progenitori mieloizi, limfocite T şi fibroblaşti. Densitatea celulară este mică (50–500/celulă) dar afinitatea de legare este înaltă (2–4 nM).

Mecanismul de semnalizare intracelulară este reprezentat de activarea tirozinkinazei şi producţia de AMPc.

SURSE CELULARE

G–CSF este produs de macrofage, celule endoteliale şi fibroblaşti. Producţia de G–CSF creşte după stimularea bacteriană sau după acţiunea unor citokine ca IL–1, TNF–α IL–3, IL–4 şi GM–CSF.

EFECTE BIOLOGICE

G–CSF stimulează diferenţierea şi proliferarea celulelor progenitare neutrofilele dar şi activitatea neutrofilelor mature. În acest sens creşte expresia moleculelor de adeziune şi a receptorilor pentru fracţiunea C3b a complementului. Stimulează funcţia chemotactică şi producţia de radicali liberi ai oxigenului şi metaboliţi ai acidului arahidonic. G–CSF stimulează participarea neutrofilelor mature la mecanismul citotoxicităţii celulare anticorp-dependentă (ADCC).

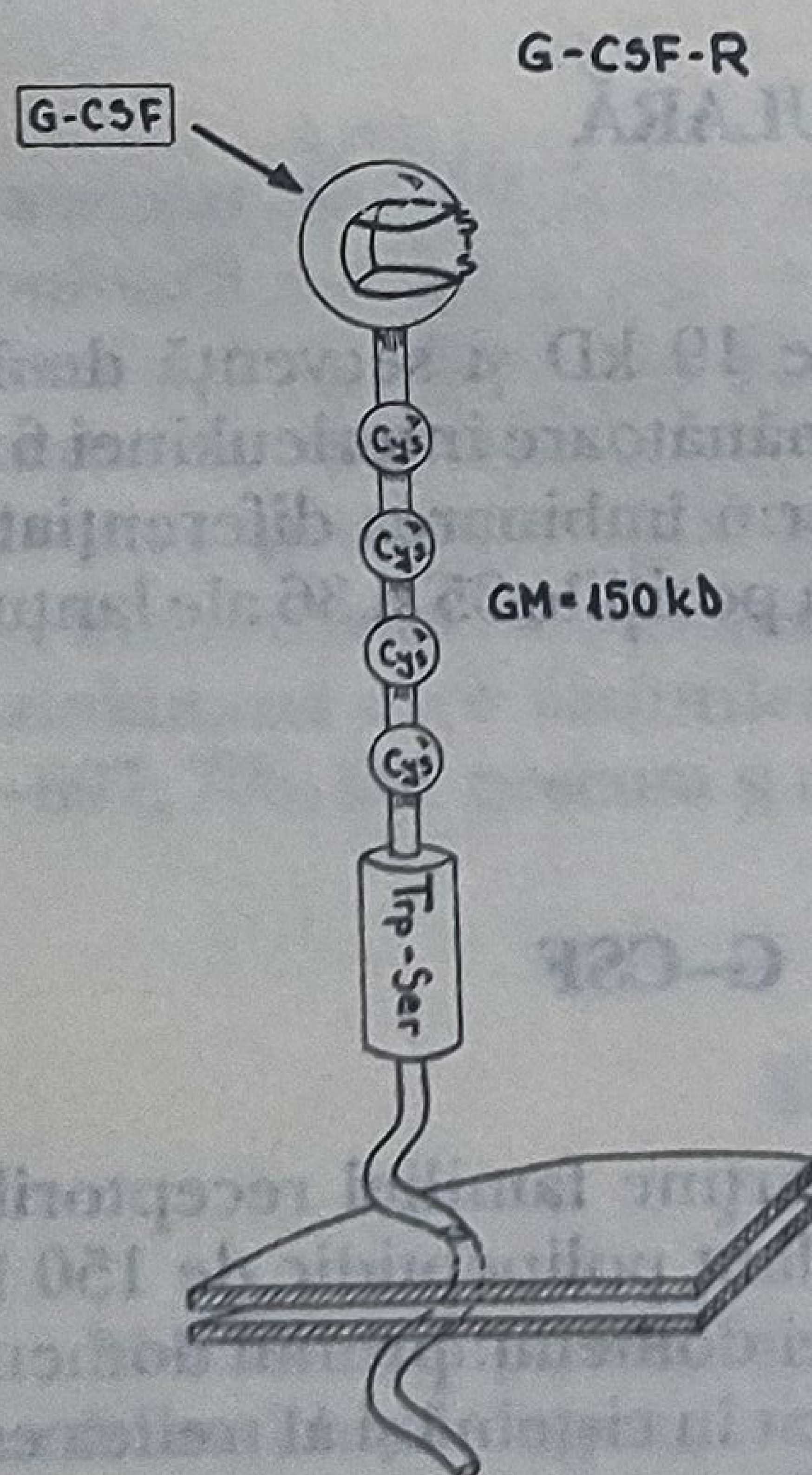


Fig. 35. Receptorul G–CSF–R.

MULTI–CSF (IL–3)

Factorul de stimulare a multiplelor linii celulare numit interleukina 3 (IL–3) are rol major în diferenţierea şi proliferarea tuturor coloniilor celulare hematopoetice derivate din celula stem multipotentă.

STRUCTURA MOLECULARĂ

IL–3 este o proteină cu o conformaţie dimerică, de 15–30 kD şi secvenţa de 152 aminoacizii constantă într-o proporţie de 28%. La nivelul capătului amino-terminal există secvenţa „leader" de 19 aminoacizi. Zona activă a structurii corespunde poziţiilor 17–19 din lanţul polipeptidic.

RECEPTORUL PENTRU IL–3

Receptorul pentru IL–3 (IL–3–R) este distribuit pe suprafaţa precursorilor liniei mieloide, pe mastocite, macrofage, bazofile şi limfocite T.

Are structura polipeptidică monomeră, de 75 kD, sau dimeră reprezentată de lanţul α (120 kD) şi β (130 kD) care este comun pentru receptorii GM–CSF–R şi IL–5–R (fig. 36).

Afinitatea pentru ligand variază între 100–1 000 pM. Fixarea IL–3, IL–5 sau a GM–CSF pe receptorii IL–3–R se traduce prin activarea tirozinkinazei şi proteinkinazei C, autofosforilarea lanţului β şi fosforilarea unor proteine intracelulare (p93, p73).

SURSE CELULARE

IL–3 este produsă de limfocitele T helper activate, celulele endoteliale, fibroblaşti şi mastocitele activate IgE activgate.

EFECTE BIOLOGICE

IL–3 stimulează diferenţierea celulei stem multipotente prin creşterea sensibilităţii acesteia la acţiunea altor CSF. Sub acţiunea IL–3 progenitorii mieloizi asigură expansiunea tuturor liniilor celulare.

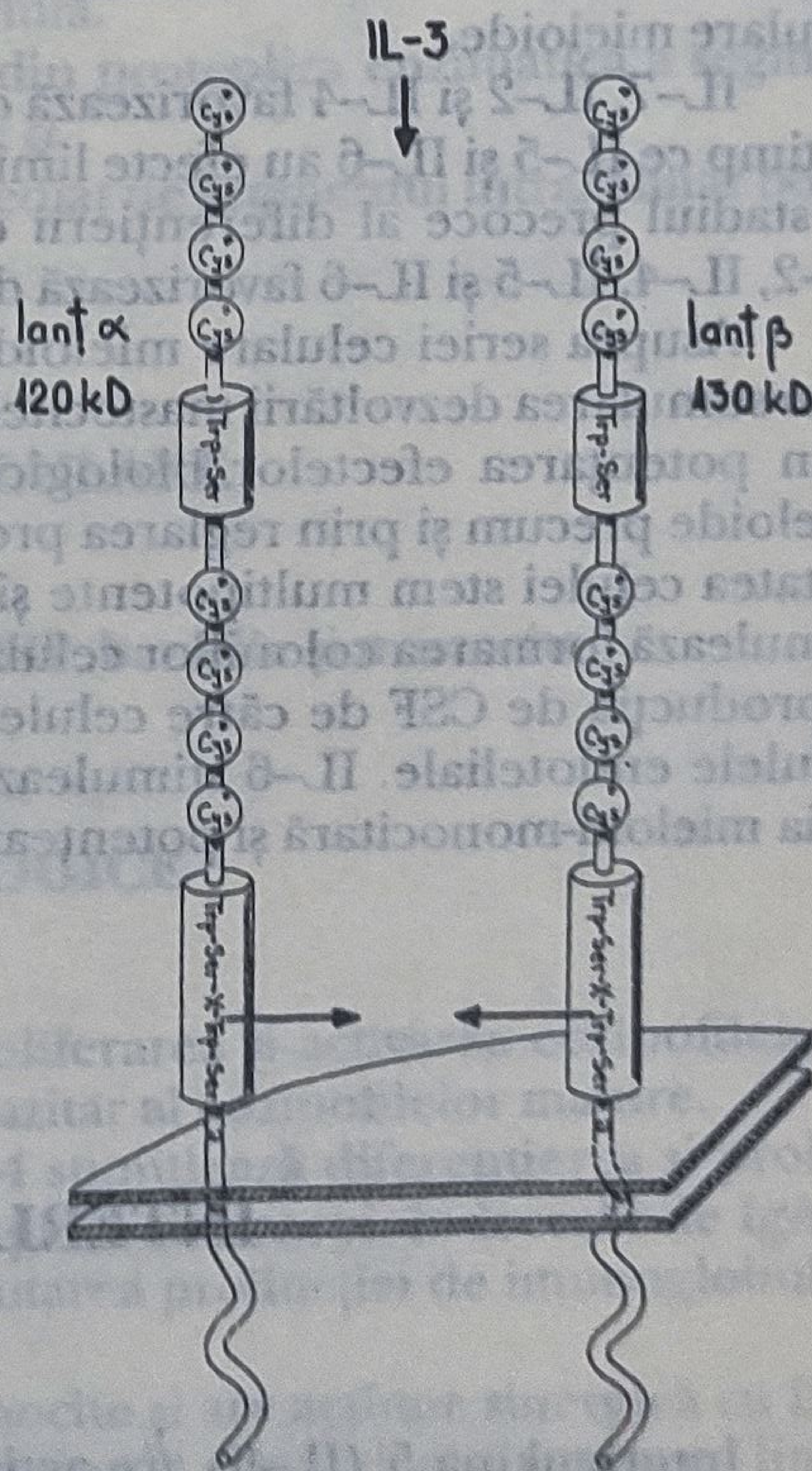


Fig. 36. Receptorul IL–3–R.

Prin acţiune sinergică cu IL–4, asigură dezvoltare şi proliferarea liniei celulare mastocitare. Acţionează asupra neutrofilelor şi macrofagelor mature stimulând funcţia de fagocitoză.

B. INTERLEUKINE CU ROL ÎN HEMATOPOEZĂ

Cu excepţia IL–3 există mai multe citokine care aparţin familiei interleukinelor, cu efecte asupra celulei stem multipotente şi a progenitorilor hematopoetici. Aceste efecte sunt directe sau indirecte, de potenţare sau de reglare a producţiei factorilor hematopoetici principali (CSF). Interleukinele asigură dezvoltarea liniei celulare limfocitare şi influenţează dezvoltarea liniei celulare mieloide.

IL–7, IL–2 şi IL–4 favorizează dezvoltarea populaţiei de limfocite T şi B, în timp ce IL–5 şi IL–6 au efecte limitate asupra limfocitelor B. IL–7 intervine în stadiul precoce al diferenţierii celulei stem în progenitori limfoizi, iar IL–2, IL–4, IL–5 şi IL–6 favorizează dezvoltarea şi maturarea acestora.

Asupra seriei celulare mieloide, IL–4, IL–9, şi IL–10 au efecte directe prin stimularea dezvoltării mastocitelor. IL–1, IL–5 şi IL–6 acţionează indirect prin potenţarea efectelor biologice ale CSF asupra celulelor progenitor mieloide precum şi prin reglarea producţiei acestor factori. IL–1 creşte sensiblitatea celulei stem multipotente şi a celulelor progenitor la acţiunea CSF, stimulează formarea coloniilor celulare cu potenţial proliferativ înalt precum şi producţia de CSF de către celulele stromale ale măduvei hematogene şi celulele endoteliale. IL–6 stimulează diferenţierea celulelor progenitor pe linia mieloid-monocitară şi potenţează efectele CSF pe acéste celule.

INTERLEUKINA 5

Interleukina 5 (IL–5) are acţiune limitată asupra eozinofilelor dar şi asupra limfocitelor, îndeosebi limfocitele T.

STRUCTURA MOLECULARĂ

IL-5 este un oligomer de 18–20 kD cu o secvenţă de 134 aminoacizi codificată de o singură genă situată pe cromozomul 5.

RECEPTORUL PENTRU IL–5

Receptorul pentru IL–5 (IL–5–R) face parte din familia receptorilor hematopoetinici. Este distribuit pe eozinofile, bazofile şi limfocite.

Are două lanţuri polipeptidice α de 60 kD şi β de 130 kD, comun pentru GM–CSF–R şi IL–3–R (fig. 37). Forma monomer, cu afinitate joasă, are densitate celulară mică faţă de forma dimer (α/β) cu afinitate înaltă, de 10–100 pM şi densitate de $75 \cdot 10^3$–10^4/celulă.

Forma solubilă (IL–5–Rs) rezultă din proteoliza enzimatică a segmentului extracelular al lanţului polipeptidic α.

Mecanismul de semnalizare este mediat de segmentul intracelular bogat în prolină care activează tirozinkinaza.

SURSE CELULARE

IL–5 este produsă de limfocitele TH2, bazofile şi mastocite.

EFECTE BIOLOGICE

IL–5 stimulează diferenţierea, proliferarea şi activarea eozinofilelor şi facilitează mecanismul citotoxic antiparazitar al eozinofilelor mature.

Prin efect sinergic cu IL–2 şi IL–4 stimulează diferenţierea şi proliferarea limfocitelor B. Stimulează producţia de anticorpi, îndeosebi de IgA cu rol în imunitatea mucoaselor prin comutarea producţiei de imunoglobuline la izotipul IgA.

Este un factor mitogen pentru timocite şi are acţiune sinergică cu IL–2 privind stimularea diferenţierii limfocitelor T citotoxice şi activarea limfocitelor T prin creşterea expresiei receptorilor IL–2–R.

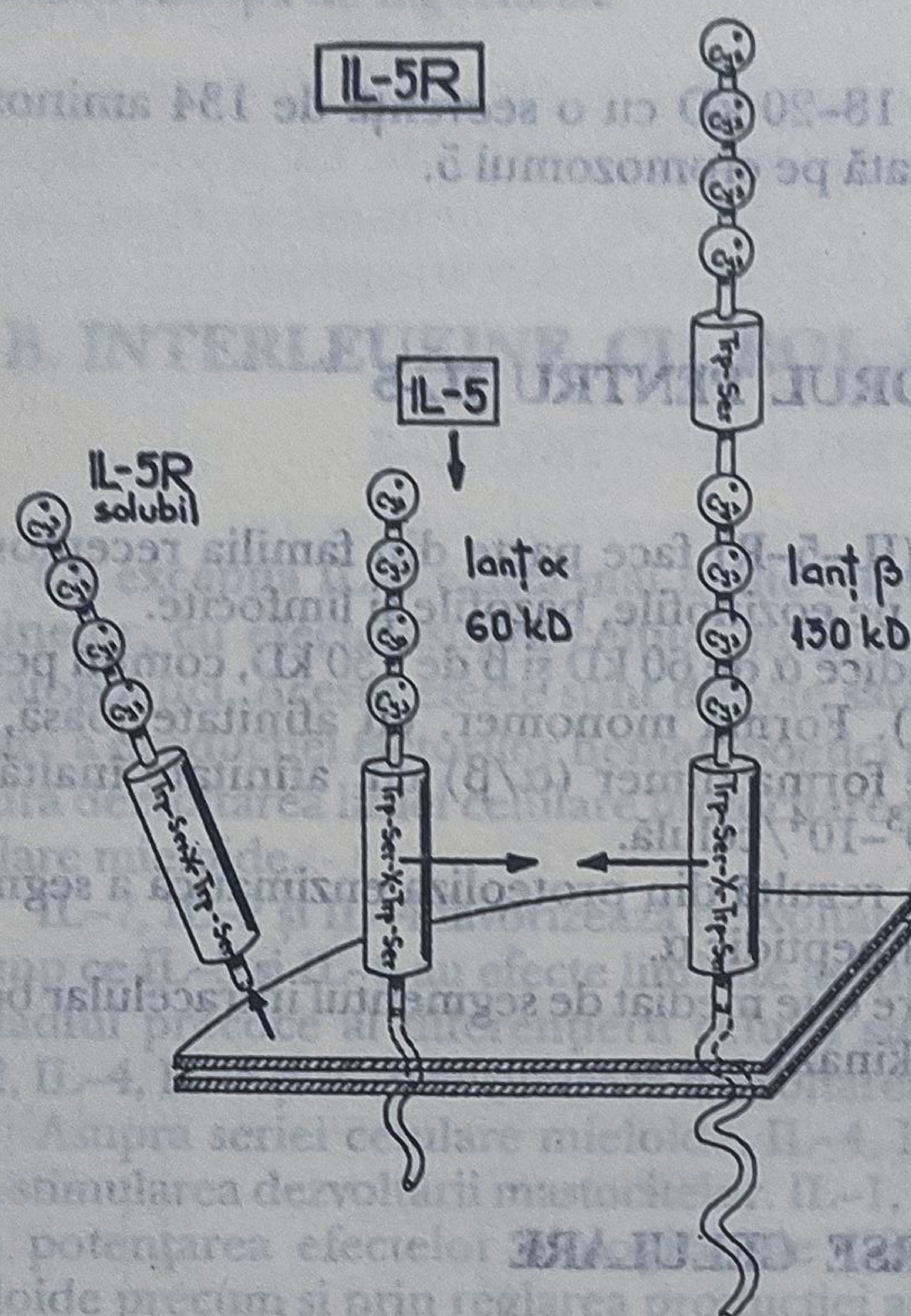


Fig. 37. Receptorul IL–5–R.

INTERLEUKINA 7

Interleukina 7 (IL–7) orientează progenitorii hematopoetici spre linia celulară limfocitară B și T.

STRUCTURA MOLECULARĂ

IL–7 se prezintă sub forma unui monomer de 25 kD și 177 aminoacizi. Gena codificatoare nu a fost identificată.

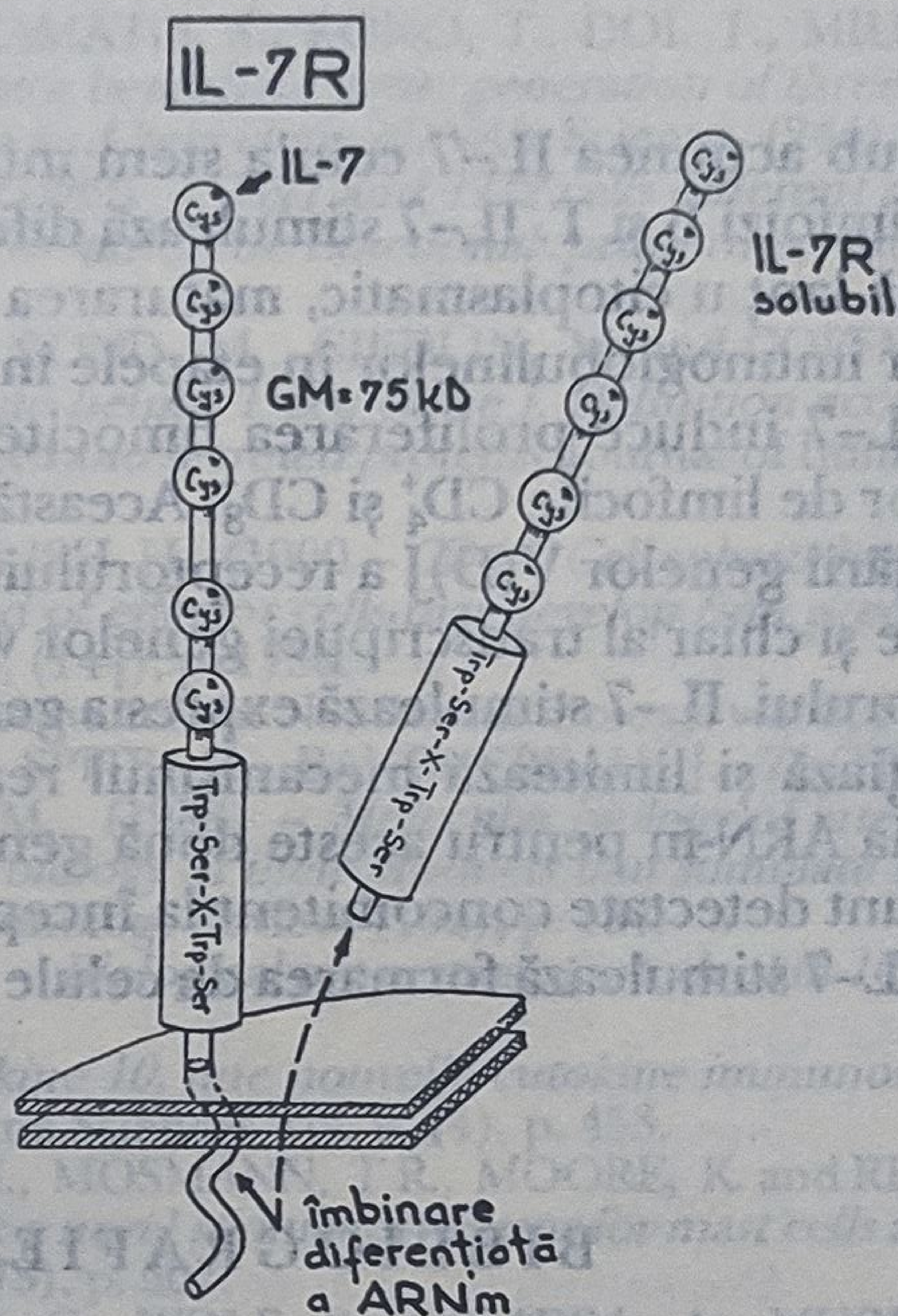


Fig. 38. Receptorul IL–7–R.

RECEPTORUL PENTRU IL-7

Receptorul pentru IL–7 este o proteina de 75 kD, distribuită pe suprafața progenitorilor limfoizi B și T, timocite, celule LAK și limfocite T citotoxice. Afinitatea pentru ligand este de 10–100 pM. Există o formă solubilă (IL–7–Rs) care rezultă prin îmbinarea diferențială a ARN–m (fig. 38). Mecanismul de semnalizare intracelulară corespunde activării tirozinkinazei și a căii fosfatidil-inozitol-fosfatului.

SURSE CELULARE

IL–7 este produsă de celulele stromale din măduva hematogenă, timus și splină.

EFECTE BIOLOGICE

Sub acţiunea IL–7 celula stem multipotentă se diferenţiază în progenitori limfoizi B şi T. IL–7 stimulează diferenţierea celulei imature pre-B care prezintă lanţ u citoplasmatic, maturarea limfocitelor B şi induce rearanjarea genelor imunoglobulinelor în etapele iniţiale ale dezvoltării celulelor B.

IL–7 induce proliferarea timocitelor dublu negative (CD_4^-/CD_8^-) şi a clonelor de limfocite CD_4^+ şi CD_8^+. Această citokină este un cofactor esenţial al rearanjării genelor V(D)J a receptorului pentru antigen (TCR) în timocitele imature şi chiar al transcripţiei genelor variabile (V) al lanţului din structura receptorului. IL–7 stimulează expresia genelor RAG–1 şi RAG–2 care la rândul lor iniţiază şi limitează mecanismul rearanjării. De asemenea, stimulează expresia ARN-m pentru aceste două gene reglatoare. Atât IL–7 cât şi genele RAG sunt detectate concomitent la începutul embriogenezei.

IL–7 stimulează formarea de celule ucigaşe activate de limfokine (LAK).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. COHEN, S., PICK E., AND OPPENHEIM, J., (1979) – *Biology of the Lymphokines;* Academia Press., p.1.
2. BANCHEREAU, J., (1993) – *The Cytokine Club;* Biofutur-mars, p. 21.
3. MITCHELL, M., TRAUTMAN, M., DUDLEY, D., (1993) – *Cytokine Networking in the Placenta;* Placenta, (14), p. 249.
4. ABBAS, A., LICHTMAN, A., POBER, J., (1991) – *Cellular and Molecular Immunology;* cap. Cytokines.
5. ARAI, K., YOKOTA, T., WATANABE, S., ARAI, N., MIYAJIMA, A., (1992) – *The regulation of Allergic Response by Cytokine Receptor Networks;* Research Trends, vol. 4, (4), p. 113.
6. WHO-IUIS (1992) – *Nomenclature Subcommitee on Interleukin Designation;* Immunology Today, vol. 13, (4), p. 118.
7. BONA, C., SIMINOVITCH, K., ZANETTI, M., THEOFILOPOULOS, A., (1993) – *The Molecular Pathology of Autoimmune Diseases.*
8. KIMBALL, J., (1990) – *Introduction to Immunology – third edition;*
9. ROITT, I., (1991) – *Essential Immunology – sixth edition.*
10. ROITT, I., (1989) – *Immunology-second edition.*
11. BALKWILL, F., (1993) – *Citokines in health and disease;* Immunology Today vol.14, (4), p. 149.
12. STITES, P., TERR, A., (1991) – *Basic Human Immunology – cap. Cytokines.*
13. GEMSA, D., RESCH, H., (1992) – *Immunologie – cap. Citokine.*
14. SCOTT, P., TERR, A., (1993) – *Interleukin-12; initiation Cytokine for Cell Mediated Immunity;* Science, vol. 260, p. 496.
15. PONTZER, C., GRIGGS, N., JOHNSON, H., (1992) – *Interleukin-2;* Advances in Neuroimmunology, vol. 2, (1), p. 17.
16. WALDMAN, TH., (1993) – *The IL–2/IL–2 receptor system: a target for rational immune intervention;* Immunology Today, vol. 14, (6), p. 264.

17. GEORGIEW, V., ALBRIGHT, J. (1993) – *Cytokines and Their Role as Growth Factors and in Regulation of Immune Responses;* Annals of the Academy of Sciences, vol. 685, p. 584.
18. HATAKEYAMA, M., TSUDO, M., MINAMATO, S., KONO, T., DOI, T., MIUATA, T., (1989) – *Interleukin-2 receptor beta-chain gene; generation of three receptor forms by cloned human alpha and beta chain cDNA's;* Science, (244), p. 551.
19. MOSMANN, T.R., COFFMANN, R., (1989) – *TH1 and TH2 cells different pattern of lymphokine secretion lead to different functional properties;* Anuu. Rev. Immunol., (7), p. 145.
20. MOSMANN, T.R., CHERVINSKI, R., BOND, M., GIEDLIN, M. and COFFMAN, R., (1986) – *Two types of murine helper T cell clone I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins;* Journal of Immunology, (136), p. 2348.
21. SWAIN, S., WEINGERG, A., and ENGLISH H., (1990 – *CD4 T Cell subsets lymphokine secretion of memory cells and of effector cells that develop frim precursors in vitro;* Journal of Immunology, (144), p. 1788.
22. ISAKSON, P., (1992) – *Interleukin 4;* Advances in Neuroimmunology, vol. 2, (1), p. 30.
23. YOKOYA, T., ARAI, N., de VRIES, J., SPITS, H., BANCHEREAU, J., ZLOTNIK, A., RENNICK, D., HOWARD, M., (1988) – *Molecular biology of interleukin 4 and interleukin 5 genes and biology of their products that stimulate B, T cells and hematopoetic cells;* Immunology Review, (102), p. 137.
24. HOWARD, M., O'GARRA, A., (1992) – *Biological properties of interleukin 10;* Trends, vol. 13, (6), p. 198.
25. GOLDMAN, M., (1993) – *L'interleukine 10, une nouvelle cutokine immunosupresive et anti-inflammatoire;* Medicine Sciences, vol. 9, (4), p. 453.
26. THOMPSON, S., DHAR, V., BOND, M., MOSMANN, T.R., MOORE, K. and RENNICK, D., (1991) – *Interleukin 10: a novel stimulatory factor for mast cells and their progenitors;* J. Exp. Med., (173), p. 507.
27. HSIEH, C., MACATONIA, S., TRIPP, C., WOLF, S., O'GARRA, A., MURPHY, K., (1992) – *Development of TH1 CD4 T cells through IL-12 Produced by Listeria-Induced Macrophages;* Sciences, vol. 260, p. 547.
28. TRINCHIERI, G., (1993) – *Interleukin 12 and it's role in the generation of TH1 cell;* Immunology Today, vol. 14, (7), p. 335.
29. PELEGINI, S., SCHINDLER, CH., (1993) – *Early events in signalling by interferons;* Tibs, (18), p. 338.
30. SPORN, M., ROBERTS, A., WAKEFIELD, L., CROMBRUGGHE, B., (1987) – *Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta;* J. Cell Biol., (105), p. 1039.
31. HOOPER, W. C., (1991) – *The role of transforming growth factor-beta in hematopoesis;* Leuk. Res., (15), p. 179.
32. DINERELLO, CH., WOLFF, S., (1993) – *The role oj interleukin 1 in disease;* The New England Journal of Medicine, (14), p. 106.
33. ALLEN, J., HERZYK, D., ALLEN, E., WEWERS, M., (1992) – *Human whole blood interleukin 1 beta production: kinetics, cell source and comparison with TNF-alfa;* Journal of Lab. and Clin. Med., vol. 9, (5) p. 558.
34. CUNNINGHAM, E., DE SOUZA, E., (1993) – *Interleukin 1 receptors in the brain and endocrine tisseus;* Immunology Today, vol. 14, (4), p. 171.
35. COZZOLINO F., TORCIA, M., ALDINUCCI, D., STERN, D., (1991) – *Interleukin-1 is an autocrin regulator of human endothelial cell growth;* Cell Biol., vol. 87, p. 6487.
36. GIOVINE, F., DUFF, G., (1990),*IL-1: the first interleukin;* Immunology Today, vol. 11, (7), p. 30.
37. DOWER, S., BIRD, T., SIMS, J., (1992) – *Interleukin 1;* Advances in Neuroimmunology, vol. 2, (1), p. 1.
38. AURON, P.E., WEBB, A.C., ROSENWASSER, L., DINARELLO, C.A., (1984) – *Nucleotide seguence of the interleukin 1 precursor cDNA;* Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), (81), p. 7907.

39. BENSIMON, C., WAKASUGI, N., TAGAYA, Y., TAKASURA, K., YODOI, J., TURSZ, T. and WAKASUGI, H., (1989) – *Two distinct affinitiv binding site for IL–1 on human cell lines;* J. Immunol., (143), p. 1168.
40. NICOLA, S.N., (1989) – *Hemopeotic Cell Growth Factors and Their Receptors;* Annu. Rev. Biochem., (58), p. 45.
41. MYUO, A., KITAGAMA, S., OHSAKA, A., SARTO, M., TAKAKU, F., (1990) – *Stimulation and priming of human neutrophils by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; qualitative and quantitative differences;* Biochemical and Biophysical Research Communication, vol. 171, (1), p. 491.
42. YANG, Y., KOVACIC, S., KRIZ, R., WOLFF, S., CLARK, S., WELLEMS, T., EPSTEIN, N., (1988) – *The human genes for GM–CSF and IL–3 are closely linked in tandem on chromozome 5;* Blood, (71), p. 958.
43. LOPEZ, A., EGLINTON, J., LYONS, A., TAPLEY, P., TO, L. B., PARK, L., CLARK, S., and VADAS, M., (1990) – *Human interleukin 3 inhibits the binding of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin 5 to basophils and strongly enhances their functional activity:* J. Cell Physiol., (145), p. 69.
44. SCHRENS, J., ARAI, K. and MIYIMA, A., (1990) – *Evidence for a low affinity interleukin 3 receptor;* Growth Factors, (2), p. 221.
45. C. KENZIE, A., SANDERSON, J., (1992) – *Interleukin 5;* Advances in Neuroimmunology, vol. 2, (1), p. 67.
46. YAMAGUCHI, N., HITOSHI, Y., MITA, S., HOSOYA, Y., MURATA, Y., KIKUCHI, Y., TOMINAGA, A., and TAKATSU, K., (1990) – *Characterisation of the murine interleukin 5 receptor by using a monoclonal antibody;* Int. Immunol., (2), p. 181.
47. YAMAGUCHI, N., TAKAHASHI, T., HARADA, N. and TAKATSU, K., (1989) – *Mechanisms of the interleukin 5-induced differentation of B cells;* J. Biochem. Tokyo, (106), p. 837.
48. MUEGGE, K., VILA, M., DURUM, S., (1993) – *Interleukin 7-A Cofactor for V(D)J Rearrangement of the T cell Receptor beta Gene;* Science, vol. 261, p. 93.

TOLERANȚA FAȚĂ DE ANTIGENELE STRĂINE: DRUMUL DE LA VIS LA REALITATE

Dr. med. habil. PETER TERNESS, M.D.

Institut für Immunologie
Universität Heidelberg
Heidelberg
Deutschland

1. A ÎNCEPUT CU NASUL...

Într-un manual de chirurgie din secolul XVIII, este descris următorul caz: soţia geloasă a unui notar din Paris s-a dus într-o zi la măcelărie, unde lucra presupusa amantă a soţului ei. După ce i-a reproşat diverse lucruri, a apucat un cuţit mare de pe masa şi a tăiat nasul rivalei. Nasul tăiat a fost imediat recusut şi s-a revitalizat fără probleme.

Rapoarte despre transplantul de organe găsim mult mai devreme în miturile şi legendele popoarelor. Însă despre o dezvoltare sistematică a tehnicii operatorii în transplantul de organe se poate vorbi numai de la începutul acestui secol.

Prima încercare reuşită de transplant renal a fost realizată la câine de către E. Ullmann în 1902 şi publicată în Wiener Medizinische Wochenschrift (fig. 39). În următoarele decenii a fost perfecţionată tehnica chirurgicală de transplant renal, care cu unele modificări se utilizează şi astăzi (Wagner 1981). Reuşita majoră a avut loc de abia în anii '50. O zi înainte de Crăciunul anului 1954, Joseph Murray (Premiul Nobel 1990) a efectuat cu succes un transplant renal la gemeni monozigoţi.

Cel târziu din acest moment trebuie să fii devenit limpede lumii medicale că rejetul unui rinichi străin nu constituie o problemă tehnic-chirurgicală, ci una imunologică.

Începuturile cercetărilor imunologice pentru transplant ajung până în secolul XVIII. Din acele timpuri datează încercările de a unifica polipi de apă dulce sau viermi (Wagner 1981). Cu toate că se suspiciona o barieră individuală extrem de puternică responsabilă pentru rejet, în următorii ani s-au publicat numeroase experimente, care au dus la concluzia eronată că această barieră ar putea fi învinsă fără intervenţii imunologice.

Acum 120 de ani a apărut în revista „Nature" un articol despre transplantul dentar între animale din specii diferite: „M. P. Bert descrie în „Thesis on animal grafting" încercările domnului M.J.M. Philipeaux:

Wiener klinische Wochenschrift

unter ständiger Mitwirkung der Herren Professoren Drs.

G. Braun, O. Chiari, Rudolf Chrobak, V. R. v. Ebner, A. Freih. v. Eiselsberg, S. Exner, M. Gruber, A. Kolisko, Rich. Freih. v. Krafft-Ebing, I. Neumann, H. Obersteiner, R. Paltauf, Adam Politzer, F. Schauta, J. Schnabel, C. Toldt, A. v. Vogl, J. v. Wagner, Emil Zuckerkandl.

Begründet von weil. Hofrath Prof. H. v. Bamberger.

Herausgegeben von

Ernst Fuchs, Karl Gussenbauer, Ernst Ludwig, Edmund Neusser, L. R. v. Schrötter und Anton Weichselbaum.

Die „Wiener klinische Wochenschrift" erscheint jeden Donnerstag im Umfange von mindestens zwei Bogen Grossquart. Zuschriften für die Redaction sind zu richten an Dr. Alexander Fraenkel, IX/3, Maximilianplatz, Günthergasse 1. Bestellungen und Geldsendungen an die Verlagshandlung.

Redaction: Telephon Nr. [illegible]

Abonnementspreis jährlich 20 K = 20 Mark. Abonnements- und Insertions-Aufträge für das In- und Ausland werden von allen Buchhandlungen und Postämtern, sowie auch von der Verlagshandlung übernommen. — Abonnements, deren Abbestellung nicht erfolgt ist, gelten als erneuert. — Inserate werden mit 60 h = 50 Pf. pro zweigespaltene Nonpareillezeile berechnet. Grössere Aufträge nach Uebereinkommen.

Verlagshandlung: Telephon Nr. [illegible]

Organ der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien.

Redigirt von Dr. Alexander Fraenkel.

Verlag von Wilhelm Braumüller, k. u. k. Hof- und Universitäts-Buchhändler, VIII/1, Wickenburggasse 13.

XV. Jahrgang. **Wien, 13. März 1902.** **Nr. 11.**

INHALT:

(Alle Rechte vorbehalten.)

I. Originalartikel: 1. Experimentelle Nierentransplantation. Vorläufige Mittheilung. Von Dr. Emerich Ullmann, Privatdocenten für Chirurgie in Wien.
2. Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. Rudolfstiftung in Wien (Vorstand: Dr. E. Freund). Ueber den Abbau der Eiweisskörper in der Leber. Von Dr. Töpfer.
3. Aus der chirurgischen Abtheilung der Allgemeinen Poliklinik und des St. Anna-Kinderspitales des Prof. Hochenegg und aus der chirurgischen Abtheilung des Leopoldstädter Kinderspitales. Zur Therapie des epityphlitischen Douglasabscesses. Von Dr. Fritz Pendl, Assistenten der obgenannten Abtheilung an der Poliklinik und Chefchirurg des Leopoldstädter Kinderspitales.
4. Uterus bicornis mit Zwillingsschwangerschaft und Placenta incarcerata. Mittheilung aus der Landpraxis. Von Dr. Otto Rudl, Saruthein.
II. Nekrolog: M. Kaposi, geboren am 23. October 1837, gestorben am 6. März 1902. Von Neumann.
III. Referate: Ueber die Entstehung der angeborenen Hüftverrenkung. Von F. v. Friedlaender. Die anormalen Kinder und ihre erziehliche Behandlung in Haus und Schule. Von Prof. Dr. med. Jean Demoor. Die Impfung und ihre Technik. Von Hofrath Dr. med. Konrad Blass. Die Krankheiten des Mundes und der Zähne im Kindesalter. Von Dr. Joh. Hugo Spiegelberg. Die Temperaturverhältnisse bei den Neugeborenen in ihrer ersten Lebenswoche. Von Johann Lachs. Ref. Friedjung.
IV. Aus verschiedenen Zeitschriften.
V. Vermischte Nachrichten.
VI. Verhandlungen ärztlicher Gesellschaften und Congressberichte.

Experimentelle Nierentransplantation.

Vorläufige Mittheilung.[1]

Von Dr. Emerich Ullmann, Privatdocenten für Chirurgie in Wien.

Meine Herren! Gelegentlich meiner Versuche über Darmtransplantation, über welche ich voriges Jahr dieser Gesellschaft zu berichten die Ehre hatte, dachte ich daran, ob es nicht möglich wäre, auch die Niere zu transplantiren. Die ersten diesbezüglichen Versuche misslangen aus dem Grunde, weil ich als Versuchsthier das Schwein wählte, dessen Venen ausserordentlich zart und zerreisslich sind. Erst als ich die Transplantationen an Hunden ausgeführt habe, gelangen sie vollständig. Ich will vorweg betonen, dass es sich bei meinen Versuchen nicht etwa um Transplantation von Nierenpartikelchen handelt, wie in den Versuchen von Lubarsch und Allessandri. Diese haben kleine Stückchen von Nierengewebe in die Milz und in Lymphdrüsen transplantirt um die Veränderungen zu studiren, welche das Nierengewebe, namentlich die Harncanälchen, daselbst erleiden. Veränderungen, welche zumeist in einer Nekrobiose bestanden haben. In meinen Versuchen handelt es sich aber um Transplantationen der Niere in toto, um Organtransplantationen, wie solche an anderen Organen, an der Schilddrüse, am Hoden und an den Ovarien bereits mehrfach ausgeführt wurden. Bei einem so massigen Organ, wie es die Niere ist, war es von vorneherein nicht wahrscheinlich, dass die Experimente durchführbar seien; nichtsdestoweniger gelangen sie, da nicht nur die Lebensfähigkeit der transplantirten Niere, sondern auch ihre physiologische Function erhalten blieb.

Die Ausführung der Transplantation geschah auf folgende Weise: Am Orte, wohin die Niere transplantirt werden sollte — und als solchen wählte ich erst die Inguinalgegend, später auf Herrn Hofrath Exner's Empfehlung den Hals, weil an der letzteren Stelle die Thiere sich nicht lecken können und eine Verunreinigung am ehesten vermieden werden kann — wird durch einen Schnitt Arterie und Vene, am Halse also Carotis und Vena jugularis auf eine weite Strecke hin freigelegt; dieselben werden peripheriewärts ligirt und centralwärts mit je einem armirten Schieber — armirt, damit keine Verletzung der Gefässe entsteht — versehen. Nun werden die Gefässe durchschnitten und sowohl Carotis als Jugularis zur Gefässvereinigung, wie sie von Payr angegeben wurde, vorbereitet. Die Gefässe werden durch kleine Magnesiumröhren, welche ich mir auf die Weise herstellen liess, dass die eine Hälfte der Röhren glatt ist, die andere Hälfte zwei Nuthen trägt, durchgezogen, umgekrempelt und, während die centralwärts gelegene nuthlose Hälfte mit einer Pincette gehalten wird, das Gefäss mittelst einer Ligatur an die centralwärts liegende Nuth gebunden. Jetzt führte ich die Exstirpation der Niere aus, indem der Ureter eine Strecke weit lospräparirt und durchschnitten wurde und die Arteria und Vena renalis möglichst nahe an den grossen Gefässen einfach ligirt und durchschnitten wurden. Nun ist die Niere in eine in warme, physiologische Kochsalzlösung getauchte, sterilisirte Compresse gelegt und am Halse die Vena renalis über die Jugularis gezogen und mit einer Ligatur an der peripheriewärts liegenden Nuth befestigt worden, ebenso wurde die Arteria renalis über die Carotis gezogen und an der peripheriewärts liegenden Nuth befestigt. Dann wurden die Schieber zuerst von der Vene, dann von der Arterie entfernt. Sofort strömte Blut durch die Niere und konnten wir uns überzeugen, dass die physiologische Thätigkeit fortbestand, indem bald Urin durch den Ureter abging. Ich will Sie, meine Herren, mit den Angaben, auf welche Weise eine Regulirung des Zuströmens und

[1] Gehalten in der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien am 7. März 1902.

Fig. 39. Primul experiment reușit al unui transplant renal la câine.

„În 13 ianuarie 1853 domnul Philipeaux a introdus un dinte incisiv de la un cobai nou-născut (de câteva ore), într-o incizie practicată la nivelul capului unui cocoş tânăr. Dintele complet, inclusiv rădăcina sa, a fost plasat în aşa fel încât apexul său atingea buza plăgii. Avea o lungime de 8 mm şi o grosime de 2 mm. Cocoşul a fost sacrificat la zece luni după operaţie. Dintele, care în momentul transplantului era complet acoperit, proemina acum cu 5 mm deasupra pielii. Philipeaux a disecat dintele pe toată lungimea sa şi a constatat o lungime de 13 mm; deci a crescut cu 5 mm. Deosebit la acest experiment, care în anume măsură seamănă cu cel al lui Hunter şi Sir A. Cooper, în care pintenii unui cocos au fost transplantaţi în creasta acestuia, este ca aici s-a efectuat un transplant la un animal utilizând un organ de la o specie cu totul diferită." (*Nature*, 28 iulie 1870). Primul experiment de acest fel a fost efectuat într-adevăr de către John Hunter (1723–1793), părintele chirurgiei experimentale. Hunter nu a transplantat numai pintenii de cocoş, cum se afirmă în „Nature", ci şi un dinte uman. Documentaţia acestor experimente se găseşte şi astăzi în „Hunterian Museum" al „Royal College of Surgeons of England". Faptul că unele organe, cum ar fi dinţii, sunt slab imunogene şi deci nu provoacă rejet, a fost recunoscut mult mai târziu.

În cuvântarea susţinută la acordarea premiului Nobel, Karl Landsteiner, descoperitorul grupelor sanguine, a prevăzut deja în 1930 că în afara sistemului ABO există şi alte sisteme ce participă la acceptarea sau respingerea ţesuturilor transplantate. În cursul timpului s-au înmulţit argumentele care indică faptul că rejetul organelor străine este o reacţie a sistemului imun faţă de anumite antigene ale donatorului.

Următoarele experimente dovedesc originea imună a reacţiei de rejet: dacă se transplantează piele de la un şoarece donator la un şoarece receptor histoincompatibil, de cele mai multe ori în decurs de 10 zile apare rejetul. Un al doilea transplant de la acelaşi donator va fi respins în numai 5–6 zile. Un rejet accelerat („second set rejection") apare doar atunci când de la acelaşi donator s-a mai transplantat o dată ţesut; transplantul concomitent de la alţi donatori nu va fi respins atât de repede (accelerat). Capacitatea de rejetare a putut fi transmisă prin limfocite de la un animal imunizat la unul netratat (neimunizat).

Aceste experimente relevă cele două caracteristici principale ale imunităţii: MEMORIA şi SPECIFICITATEA, şi arată că rejetul este transmis prin limfocite.

2. RĂZBOIUL DE 30 DE ANI

Au trecut 30 de ani de când Medawar a primit premiul Nobel pentru inducţia toleranţei imunologice. Prin experimente elegante a demonstrat că în anumite condiţii sistemul imun al unui animal poate accepta ţesut străin

ca pe unul propriu (self) (Billingham, Brent, Medawar 1953). Experimentele au pornit de la observația că gemenii dizigoți de viței dezvoltă o toleranță reciprocă la antigenele tisulare ale celuilalt, dacă în timpul dezvoltării embrionare are loc un schimb sanguin printr-o placentă comună. S-ar fi așteptat ca aceste animale neidentice să respingă transplantul de la celălalt geamăn, dar fiidcă au schimbat între ei sânge în cursul dezvoltării, embrionare, s-au dovedit a fi în ceea ce privește țesutul hematopoetic himere stabile, și au putut accepta între ei transplante de piele. Medawar a reprodus acest fenomen prin tratarea unor șoareci nou-născuți cu celule splenice de la șoareci adulți din altă specie. Ca animale adulte șoarecii receptori au fost toleranți față de transplantele de piele de la șoarecii donatori, dar au respins transplantele de la donatori străini (neînrudiți).

Cu aceste experimente istorice imunologia s-a apropiat de vechiul vis de a transplanta organe străine la om. Curând imunologii au încercat să inducă toleranța și la animale adulte. În acest scop s-au folosit imunomodulatori de natură fizică, farmacologică sau biologică, cum ar fi citostatice, iradiere corporală globală letală, iradiere ganglionară limfatică globală, globulină antilimfocitară, sau o combinație a acestor metode. Diversitatea protocoalelor demonstrează deja cât este de dificil să se inducă toleranța la animalul adult. De multe ori trebuiau aplicate măsuri supresive eroice pentru a obliga sistemul imun al anui individ adult să accepte ca și proprii (self) celule allogene.

Cu toate progresele în acest domeniu nu există până astăzi o metodă ideală. În plus în ultimele decenii au existat controverse de principiu asupra mecanismului de inducere a toleranței.

Acum 400 de ani a izbucnit războiul de 30 de ani. Războiul a fost condus pe bazele *intoleranței religioase.* De peste 30 de ani se poartă un război pe baricadele *toleranței imune*. Pe de o parte se situează susținătorii deleției clonale, de cealaltă parte cei ai supresiei active.

Oare se conturează o soluție de compromis a celor două puncte de vedere? Ne-am apropiat oare de pacea din Westfalia?

3. FACTORI CARE INFLUENȚEAZĂ INDUCȚIA TOLERANȚEI

A. VÂRSTA

Cum am amintit deja, lucrările lui Medawar (Billingham, Brent, Medawar 1953) au indicat că toleranța poate fi obținută mult mai ușor la animale nou-născute decât la cele adulte. Constatarea a fost confirmată mai

târziu de Hasek (Hasek et al. 1959) şi apoi de mulţi alţi experimentatori. Diferenţele ontogenetice oglindesc sensibilitatea diferită a limfocitelor imature şi mature faţă de semnale tolerogene. Acest fenomen a fost reprezentat deosebit de clar în experimentele lui Cooper et al. (1980), în care s-a încercat de a face tolerante celulele B imature şi respectiv mature cu ajutorul anticorpilor anti-IgM. Pentru a suprima răspunsul imun al celulelor B mature a fost necesară o cantitate de anticorpi de 300 de ori mai mare. O observaţie asemănătoare au făcut şi Nossal şi Pike (1978): celulele B neonatale au putut fi făcute tolerante cu o cantitate de antigen de 1 000 de ori mai mică decât în cazul celulelor B mature. Cauzele acestui fenomen vor fi analizate mai târziu în acest capitol.

B. FACTORI GENETICI

Sensibilitatea faţă de inducerea toleranţei este diferită de la o specie de şoareci la alta (Matzinger 1987). Astfel se poate obţine extrem de greu toleranţa la specia de şoareci autoimuni (NZB×NZW)F1. Speciile care dezvoltă simptomatologie de LED sunt rezistente la inducerea toleranţei cu imunoglobulina hapten – substituită sau deagregată. Substratul genetic al acestor observaţii nu este clar.

C. COMPOZIŢIA ANTIGENULUI

Proprietăţile fizice ale antigenului determină deseori efectul tolerogen. Substanţele care se degradează lent în general sunt buni inductori de toleranţă. Astfel doze mari de polizaharide sau polimeri de D-aminoacizi care persistă îndelungat în organism, determină o toleranţă de durată mare. Pentru explicarea acestui fenomen o importanţă deosebită o au experimentele lui Dresser (1962).

Dacă dintr-un amestec de antigene se separă prin ultracentrifugare fracţiile complexe şi macromoleculare, atunci antigenul solubil restant în cantităţi minime, poate induce toleranţa şi la animale adulte. Fracţia agregată însă este puternic imunogenă.

Substanţele care sunt fagocitate uşor au acţiune imunogenă, pe când substanţele care sunt fagocitate greu acţionează tolerogen. Filtrarea biologică prin fagocite corespunde evident ultracentrifugării în experimentele lui Dresser.

Gradul de substituție al unui purtător cu o haptenă, precum și compoziția chimică a purtătorului, pot influența semnificativ inducerea toleranței. În experimentele lui Nossal et al. (1978) diverse cantități de fluoresceină au fost legate de gammaglobulina umană. Cu cât a fost mai mare cantitatea de fluoresceină legată (conjugată), cu atât mai ușor a putut fi indusă toleranța. Un alt aspect interesant în aceste experimente a fost observarea faptului că gammaglobulina-fluoresceină a fost tolerogenă, pe când F (ab') 2-fluoresceina prezintă acțiune imunogenă. S-a obținut o toleranță deosebit de puternică prin conjugarea haptenei cu imunoglobulina autologă. În acest caz s-a putut induce toleranță relativ ușor chiar și la celulele B adulte.

Inducerea stimulării cu fluoresceină-F(ab')2 și a supresiei cu fluoresceină-IgG indică faptul că regiunea Fc a IgG are importanță pentru inducerea toleranței. Ocuparea receptorului Fc de pe membrana celulei-B determină un semnal negativ. Lucrările noastre în alt sistem experimental au dus la concluzii asemănătoare. IgG autolog a determinat o supresie a celulelor B dependentă de regiunea Fc. Condiția a fost ocuparea concomitentă a receptorului pentru antigene. Dacă în locul IgG-ului autolog s-a folosit IgG heterolog, atunci a fost necesară o cantitate de 4×10^6 ori mai mare pentru a obține același efect (Terness et al. 1992 a,b). Acest efect se datorează unei afinități mai mari a IgG autolog pentru receptorul Fc.

D. CANTITATEA DE ANTIGEN

Cantitatea de antigen administrat influențează intensitatea și durata toleranței. Cantitatea supraimunogenă de antigen duce la toleranță. Unele antigene induc toleranță la două concentrații diferite (deasupra și sub doza imunogenă). La concentrații mici devin tolerante celulele T, iar la concentrații mari celulele B și T. Acest fenomen a fost desemnat ca „low and high zone tolerance". Cantitatea de antigen necesară pentru a face tolerante celulele T este mult mai mică (uneori de 1 000 de ori) decât cantitatea tolerogenă necesară pentru celulele B. Oricum cantitatea de antigen necesară pentru celulele B depinde și de afinitatea receptorului pentru antigen. Celulele B cu afinitate mare devin mai ușor tolerante decât celulele cu afinitate mică. Reguli asemănătoare sunt valabile și pentru celulele T.

O metodă interesantă de a induce toleranța prin cantități mari de antigen o constituie „transplantele masive" (massive grafts). Ballantyne et. al. (1969) au schimbat întreaga piele a unui șobolan cu pielea unui iepure. Acest transplant masiv de piele a supraviețuit de 2–3 ori mai mult decât o bucată mică de piele transplantată la animale de control. Dacă pe acest transplant masiv de piele se aplică un transplant mai mic de la un al treilea donator,

acesta va fi imediat respins. Rezultate asemănătoare au fost obţinute cu allotransplanturi. Rother et. al. (1967) au efectuat investigaţii pentru explicarea mecanismului patogenetic al acestei toleranţe. În mod surprinzător, rezultatele au evidenţiat că răspunsul imun al receptorului a fost în mare măsură intact. Nu au putut fi constatate modificări ale sistemelor importante (majore) de mediatori, cu toate că după cum a arătat acelaşi autor, mediatorii umorali (de exemplu complementul) în general, participă la reacţia de rejet.

E. CĂI DE ADMINISTRARE A ANTIGENULUI

Administrarea subcutană sau intramusculară de cele mai multe ori determină un răspuns imun, pe când administrarea intravenoasă şi mai ales orală duce mai uşor la toleranţă. O explicaţie probabilă ar fi ca în administrarea orală „filtrul biologic" să îndepărteze materialul imunogen din preparatul antigenic, rămânând numai partea tolerogenă.

F. INTERVENŢII FAVORIZANTE

În general inducerea toleranţei va fi favorizată prin măsuri care diminuă funcţia celulelor T. Date experimentale susţin punctul de vedere că interleukina 2 (IL2) se împotriveşte inducerii toleranţei. Stimulii care cresc producţia de IL2 (de exemplu Concanavalina A, reacţia Graft-versus-Host) blochează inducerea toleranţei.

Malkovsky şi Medawar (1984) au arătat că administrarea de IL2 imediat după tratarea şoarecilor nou-născuţi cu celule allogene împiedică inducerea toleranţei. Pe de altă parte s-a demonstrat că celulele splenice neonatale nu produc IL 2 după stimularea cu Concanavalina A (Con A). Această lipsă a producţiei de IL 2 explică sensibilitatea deosebită a animalelor nou-născute la stimuli tolerogeni. Tratamente care inhibă producţia de IL2 (de exemplu Ciclosporina A, cortizon, etc.) favorizează inducerea toleranţei. Îndepărtarea „in vivo" a celulelor producătoare de IL2 (de exemplu prin tratamentul cu anti-CD_4 sau ATG) duce la o toleranţă faţă de anumite antigene. Astfel Pierson et al. (1989) a arătat că durata de supravieţuire a transplantelor de piele de maimuţă sau de iepure la şoareci este mult prelungită prin tratament cu anticorpi anti-CD_4.

Experimente mai noi au arătat că legarea unui anticorp anti-CD_4 de o celulă T duce la moartea acesteia. Condiţia este însă ocuparea concomitentă

a receptorului pentru antigen (Newell 1990). Moartea este determinată de activarea celulei și apoptoza consecutivă.

În unele experimente s-a încercat creșterea eficienței tratamentului „in vivo" prin conjugarea unor toxine cu anticorpii CD_4. Kernan et al. (1988) au tratat cu succes un pacient cu reacție acută Graft-versus-Host corticorezistența folosind anticorpi anti-celula T conjugați cu ricin.

Blocarea receptorilor IL2 a dus în sisteme experimentale la prelungirea duratei de supraviețuire a transplantelor. Kirkman et al. (1985) a reușit să prelungească semnificativ supraviețuirea transplantelor de cord la șoarece prin tratamentul cu anticorpi monoclonali anti-receptor-IL2.

O alternativă elegantă la tratamentul cu anticorpi anti-receptor IL2 o constituie aplicarea de IL2 conjugat cu o toxină (Kirkman et al. 1989). În acest fel receptorii IL2 vor fi ocupați de liganzii săi naturali, iar limfocitele activate vor fi distruse de către toxină.

Iradierea totală a ganglionilor limfatici (total lymphoid irradiation=TLI) sensibilizează animalele adulte față de inducerea toleranței. Receptorii se comportă ca niște animale nou-născute (Slavin et al. 1978). În TLI vor fi iradiate principalele grupe ganglionare cu doze mici repetate, astfel încât doza totală cumulată va fi foarte mare. Prin protejarea principalelor organe nelimfatice cu plumb se reușește evitarea unor efecte secundare severe chiar la doze totale de 4 000 rads. Acest tratament determină „un răgaz fereastră de timp", în care poate fi indusă o toleranță de durată față de multe antigene, inclusiv antigene de transplant. Astfel se obțin himere hematopoietice fără dezvoltarea unor îmbolnăviri periculoase de tip Graft-versus-Host. În acest caz se pare că toleranța este determinată de dezvoltarea unor celule supresoare specifice (Strober, 1984). Aceste celule, cunoscute ca celule supresoare naturale, au fost găsite atât în splina animalelor nou-născute, cât și în cea a animalelor adulte iradiate, și nu poartă markerii caracteristici pentru celule T. În fond ele sunt înrudite fenotipic cu celulele NK, dar sunt diferite funcțional (nu ucid celulele ținta sensibile la NK!).

4. DOUĂ FORME ALE TOLERANȚEI

Există două forme de toleranță: toleranța completă și toleranța incompletă sau areactivitatea specifică. O *toleranță completă* se obține de obicei prin intervenții la nou-născuți sau prin excluderea completă a sistemului imun la adult. Cea din urmă se obține prin amintita iradiere corporală

totală sau prin TLI, urmată de reconstituirea cu măduva osoasă de la donator (Strober 1984). Deosebit de interesant s-a dovedit un model dezvoltat de către Sachs, în care după TLI, primitorul va fi reconstituit cu propria sa măduvă depletizată de celule T, precum și cu măduva osoasă de la un donator. Acest fapt a dus la o diminuare intensă a bolii Graft-versus-Host (Ildstat, Bluestone, Sachs, 1986). Pentru inducerea unei toleranțe complete se pare că este important ca măduva să fie depletiată de limfocitele periferice, în special de celule CD_4. Prezența timusului, respectiv proporția de colonizare a timusului cu celule dendritice donatoare prezintă în mod interesant o corelație directă cu măsura toleranței (Roser et al. 1979). Toleranța, completă este asociată cu fenomenul de himeră limfohematopoietică. Animalele prezintă o pierdere completă a reactivității imune față de donator. Chiar și transplanturi de piele repetate, cunoscute ca fiind intens imunogene, nu declanșează rejetul. Roser și Dorsch (1979) au arătat ca această formă de toleranța poate fi transmisă la alt animal prin celule T recirculante. Dar acest lucru a fost posibil numai atunci când primitorul a fost iradiat în prealabil.

Areactivitatea specifică este *o toleranță incompletă,* care poate fi indusă la animale adulte prin diverse intervenții, care prelungește considerabil supraviețuirea transplantului. Aceste animale reacționează slab față de țesutul transplantat, dar resping transplante de piele de la un al treilea donator. În cultura mixtă limfocitară sau în reacția Graft-versus-Host limfocitele receptorului isi păstrează reactivitatea față de donator. Fenomenul de himeră nu este caracteristic acestei situații. Există multe modele în care este indusă această formă de toleranță. Multe din aceste modele sunt cunoscute și sub numele de „imunological enhancement". În acest caz se disting un enhancement pasiv și unul activ. Cele mai importante intervenții pentru inducerea unui enhancement pasiv au constat în tratamentul cu anticorpi anti-donator (Stuart et al. 1986, French, Batchelor 1969).

Enhancement-ul activ a fost indus prin imunizare cu antigenele donatorului (de exemplu transfuzii de sânge). Cu toate că imunizarea cu antigenele donatorului înainte de transplant duce la un rejet accelerat, în anumite condiții poate apare o prelungire a supraviețuirii transplantului. Experimente cu celule transfectate cu antigene de histocompatibilitate clasa I sau II au arătat că proprietatea tolerogenă a unui antigen depinde de structura sa și de doza administrată (Madsen et al. 1988).

Se poate obține areactivitatea și prin îndepărtarea leucocitelor din organul transplantat. Rolul „passenger leucocytes" (al leucocitelor-pasageri) în rejetul transplantelor renale a fost clarificat în principal prin lucrările lui Batchelor și colaboratorii (Lechler, Batchelor 1982). Rinichii depleționați de leucocite nu au indus un răspuns imun al primitorului. Un număr extrem de mic de celule dendritice de la donator au restabilit răspunsul imun. Celulele dendritice aparțin unei mici subpopulații de celule limfoide (circa 1% din

celularitatea unui organ), care se deosebesc atât de macrofage cât și de limfocite. O explicație pentru aceste rezultate o oferă modelul semnalului dublu al activării celulelor T (Gill, Rafferty 1989). Acest model susține că celulele T sunt activate prin două semnale.

Semnalul 1 (antigen) este declanșat prin ocuparea receptorului de pe celulele T, iar semnalul 2 printr-o moleculă inductoare (costimulator).

Celulele prezentatoare de antigen și celulele cu un anumit „fenotip stimulator" (S+) produc costimulatori, pe când celulele care nu au acest fenotip (S-), nu produc aceste molecule (costimulatori). Întrucât S+ este exprimat doar pe celulele limforeticulare, devine limpede de ce leucocitele sunt deosebit de imunogene, respectiv de ce îndepărtarea leucocitelor scade imunogenitatea transplantului. Eliberarea costimulatorului este declanșată cu participarea moleculelor MHC. Conform acestui model, proprietatea imunogenă a moleculelor MHC nu este consecința antigenității lor, ci urmare a rolului lor de structură de control în eliberarea costimulatorului. Moleculele MHC acționează imunogen numai atunci când sunt exprimate pe celulele S+. Întrucât celulele S+ (de exemplu celulele dendritice) poartă antigene din clasa MHC II, celulele MHC II+ constituie cel mai important component imunogen al transplantului.

5. MECANISME DE INDUCERE A TOLERANȚEI

Există mai multe căi de dezvoltare a unei toleranțe. Date mai noi arată că atât celulele B cât și celulele T pot deveni tolerante în anumite condiții, și anume independent unele de altele și pe căi diferite. Celulele B și T se deosebesc nu numai prin modul în care dezvoltă toleranța, dar prezintă și în cursul ontogenezei o predispoziție diferită pentru toleranță.

CELULA B

Mecanismul prin care este indusă toleranța deprinde de stadiul de maturizare al celulei B, de antigen și de modul de prezentare al antigenului (fig. 40).

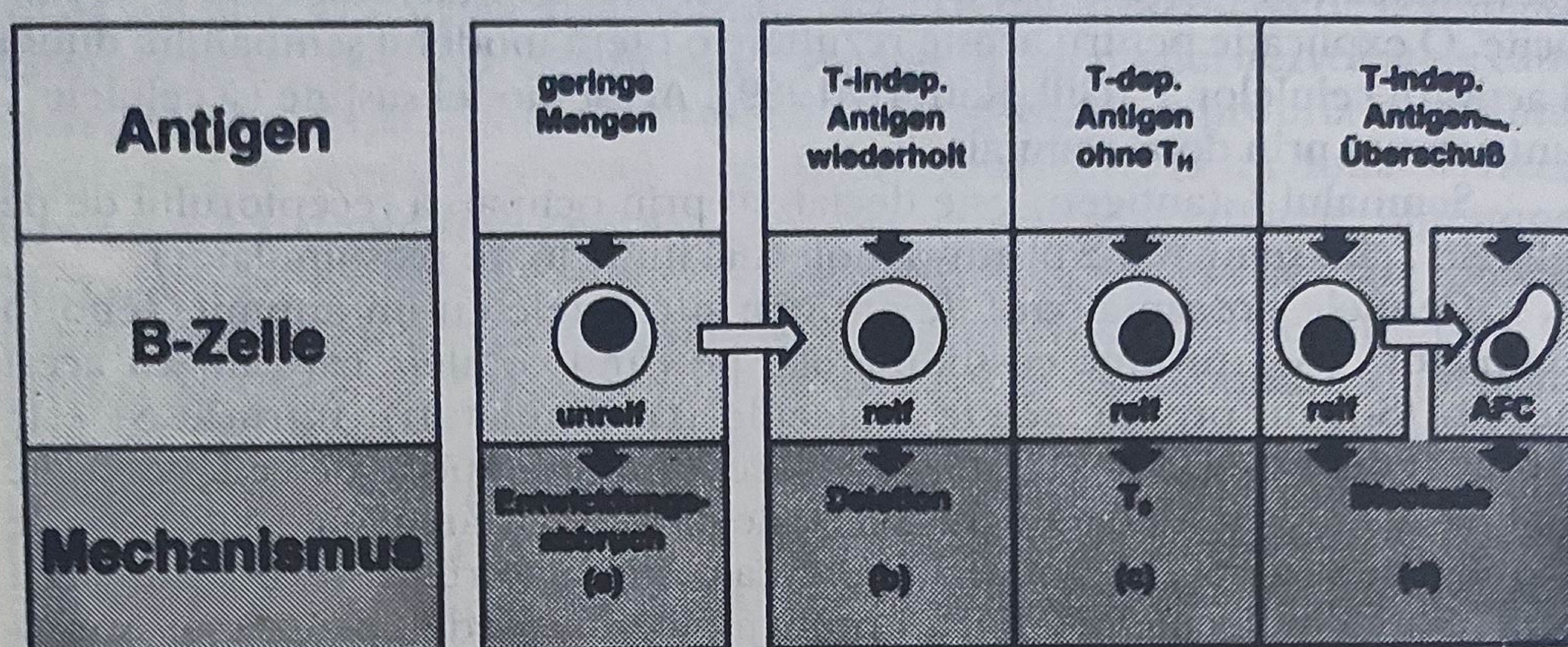


Fig. 40. Mecanismul toleranței celulelor B.

A. ÎNTRERUPEREA DEZVOLTĂRII CLONALE

În cursul maturizării, celulele B se transformă din celule sensibile la toleranță și imunologic areactive în celule insensibile la toleranța și imunologic reactive. Chiar dacă această afirmație prezintă o anumită simplificare a faptelor, multe observații au arătat că celulele B imature sunt deosebit de sensibile la toleranță. Întreruperea dezvoltării clonale se referă la inducerea toleranței în celulele B imature. Pentru aceasta există două căi: „clonal abortion" și anergia clonală.

Într-o anumită fază a dezvoltării ontogenetice, contactul dintre un limfocit și un antigen duce la moartea celulei. Acest proces a fost desemnat ca „clonal abortion" (Nossal 1989). „Clonal abortion" se deosebește de deleția clonală. „Clonal abortion" înseamnă o eliminare a celulei înainte ca aceasta să devină un limfocit periferic imunocompetent. Deleția clonală înseamnă eliminarea unui limfocit deja matur funcțional.

O altă formă de toleranță la celulele B imature o constituie *anergia clonală.* Celulele imature primesc în timpul contactului cu antigenul un semnal supresiv care le inactivează, dar nu le ucide. Următorul experiment explică această formă de toleranța. Șoareci tineri au fost făcuți toleranți față de o haptenă prin expunere intrauterină sau neonatală (Nossal 1989). Examinările ulterioare ale celulelor splenice au arătat că animalele posedau un număr normal de celule B reactive anti-haptenă. Cu toată prezența acestor

celule, ele nu au putut reacționa față de stimulul antigenic. Această observație ridică numeroase întrebări:

Care este mecanismul acestei inactivări?
Este anergia reversibilă?
Este anergia completă, sau parțială?
Poate fi indusă anergia și la celule B mature?

B. DELEȚIA CLONALĂ

Confruntări repetate cu un anumit antigen T – independent în doze imunogene poate duce la toleranță. În cadrul acestei toleranțe toate celulele B mature care răspund la antigen se diferențiază în celule formatoare de anticorpi cu durată de viață scurtă (celule AFC=antibody forming cells), (stadiul final de diferențiere a celulelor B!). Atunci când toate celulele B mature capabile de o reacție au trecut prin acest proces de diferențiere terminală nu mai rămân celule pentru un răspuns față de o solicitare antigenică ulterioară. Apare o deleție clonală. Deleția clonală poate fi demonstrată prin analiza comparativă a frecvenței unei anumite clone la animale tolerante și netolerante.

C. CELULE-T SUPRESOARE

Antigene-T-dependente pot induce un răspuns al celulelor B numai cu ajutorul celulelor T specifice (Schimpl und Wecker 1972; Dutton 1975). În cursul unui răspuns prin anticorpi față de antigene-T-dependente, celula B se leagă de o determinantă a antigenului și obține ajutor de la o celulă T specifică (T_H), care este îndreptată împotriva unei alte determinante a aceluiași antigen. Dacă nu există ajutor celular T, celula B nu poate prezenta un răspuns normal. Ajutorul celular T poate fi suprimat prin *celule T supresoare specifice antigenului* (T_S). Astfel se ajunge la o deleție funcțională a celulelor B, adică celulele B specifice antigenului sunt prezente, dar nu pot reacționa față de antigenul lor.

Unul din primele experimente care a demonstrat activitatea T_S, a făcut parte dintr-un studiu privind mecanismul de inducere a toleranței. Gershon și Kondo (1970, 1972) au arătat că șoarecele devine tolerant după transfuzia unor cantități mari de eritrocite de oaie, neproducând anticorpi. Această toleranță a putut fi transferată la alt animal cu ajutorul celulelor T. S-a presupus

că toleranța este transmisă prin celulele T supresoare. Acest mecanism a fost confirmat ulterior prin numeroase studii. În plus s-a demonstrat că există celule T_S cu memorie: cantități mari de antigen induc mai întâi celule T_S obișnuite, iar tratamentul de durată consecutiv, cu cantități mici de antigen, duce la dezvoltarea celulelor T_S cu memorie.

Este posibil ca toleranța celulelor B să apară prin combinarea deleției clonale cu inducția de celule T_S. Tratamentul cu cantități mari de antigen duce la deleția celulelor B și, în același timp, la inducerea unor celule T_S specifice antigenului. Aceste celule T_S împiedică viitoare răspunsuri cu anticorpi față de același antigen. În cazul toleranței față de autoantigene sau transplanturi este valabil același scenariu, cu dezvoltarea suplimentară a celulelor T_S cu memorie prin confruntarea îndelungată cu antigenul.

T_S-*specifice unui idiotip* au fost de asemenea descrise între timp. Acestea suprimă răspunsul imun specific al anumitor celule T sau B. Se presupune că T_S specifice idiotipului interacționează direct cu celulele B corespunzătoare. Această presupunere provine din studiul unor celule de plasmocitom care produceau un anticorp IgA anti-TNP. (Rohrer et al. 1978). Împotriva acestor celule s-au dezvoltat aceste T_S anti-idiotip. Plasmocite producătoare de IgA anti-TNP au fost fuzionate cu celule de plasmocitom producătoare de IgG. Celulele hibride au produs atât IgA (cu idiotipul relevant), cât și IgG. Dacă la aceste celule s-au adăugat T_S anti-idiotip, a apărut supresia producției de IgA, dar nu și cea a IgG (Abbas et al. 1980). Alte cercetări au arătat că T_S au fost îndreptate împotriva unei determinante idiotipice localizată în regiunea VH a IgA, și că efectul s-a declanșat printr-un factor solubil.

D. BLOCAREA CELULEI B

Antigene T-independente sunt polimeri cu determinante antigenice repetitive și cu greutate moleculară mare, care pot realiza legături multiple cu celulele B, astfel încât se poate renunța la ajutorul celulelor T. Antigene T-independente în exces pot bloca celulele B mature. Apare o deleție funcțională (celulele B specifice antigenului prezente nu pot răspunde).

Este deosebit de dificil de a face tolerante AFC (antibody forming cells). Asemănător ca la celulele B mature se reușește uneori acest lucru folosind doze foarte mari de antigene T-independente. Cantitatea mare de antigen blochează receptorii de suprafață ai celulei, împiedicând astfel secreția de anticorpi. Schröder și Nossal (1974) au demonstrat acest efect prin incubarea AFC cu antigenul lor specific. După 30 de minute 50% din celulele B și-au pierdut reactivitatea față de antigen. Supresia a fost declanșată de legarea antigenului de imunoglobulinele de suprafață.

CELULA T

De la primele experimente pe șoareci nou-născuți (Billingham, Brent, Medawar 1953), s-a presupus că există un mecanism comun în inducerea toleranței față de țesut propriu și față de țesut străin. De curând a devenit limpede ca stadiul de dezvoltare a sistemului imun este hotărâtor pentru acest mecanism. Întrucât încă de la începutul dezvoltării embrionare există autoantigene, iar antigenele străine vor fi injectate abia mai târziu, acestea se vor adresa limfocitelor aflate în diverse stadii de maturizare. Evenimentul hotărâtor în dezvoltarea sistemului imun este expresia receptorului celulei T în timus și răspândirea sa în periferie. Acest eveniment începe la șoarece sau șobolan în ziua 16–17 (Owen et al. 1986), și determină începutul reactivității imune a celulelor T. Roser (1989) consideră că antigenele străine injectate în momentul nașterii, vor găsi deja celule T funcționale și vor duce la toleranță prin intermediul inducției de celule supresoare. În orice caz celulele T funcționale reprezintă doar o parte a populației limfocitare în periferie. Contactul antigenului cu celulele T imature duce însă la „clonal abortion". Acest lucru se petrece în principal atunci când antigenul este confruntat cu sistemul imun aflat într-o fază precoce de dezvoltare, indiferent dacă antigenul este străin sau propriu.

Faptul că ipoteza dezvoltată de Roser reprezintă o simplificare a faptelor este demonstrat în experimentul descris în capitolul următor, în care toleranța neonatală nu a putut fi explicată prin celule T_S.

A. ÎNTRERUPEREA DEZVOLTĂRII CLONALE

Nossal și Pike (1981) au obținut prin tratament neonatal șoareci CBA (receptori), toleranți față de antigene BALB/c (donatori). Apoi s-a determinat la intervale regulate frecvența precursorilor celulelor T citotoxice anti-donator.

S-a observat o scădere drastică a celulelor anti-donator (până la 95% după 6 săptămâni). Metoda de determinare a celulelor a fost independentă de celulele T_H și T_S. Experimentul arată că s-a produs o excludere a celulelor anti-donator, excludere care nu a fost cauzată de T_S. Această întrerupere a dezvoltării clonale (fig. 41) se bazează fie pe o „clonal abortion", fie pe o anergie a celulelor T reactive față de donator.

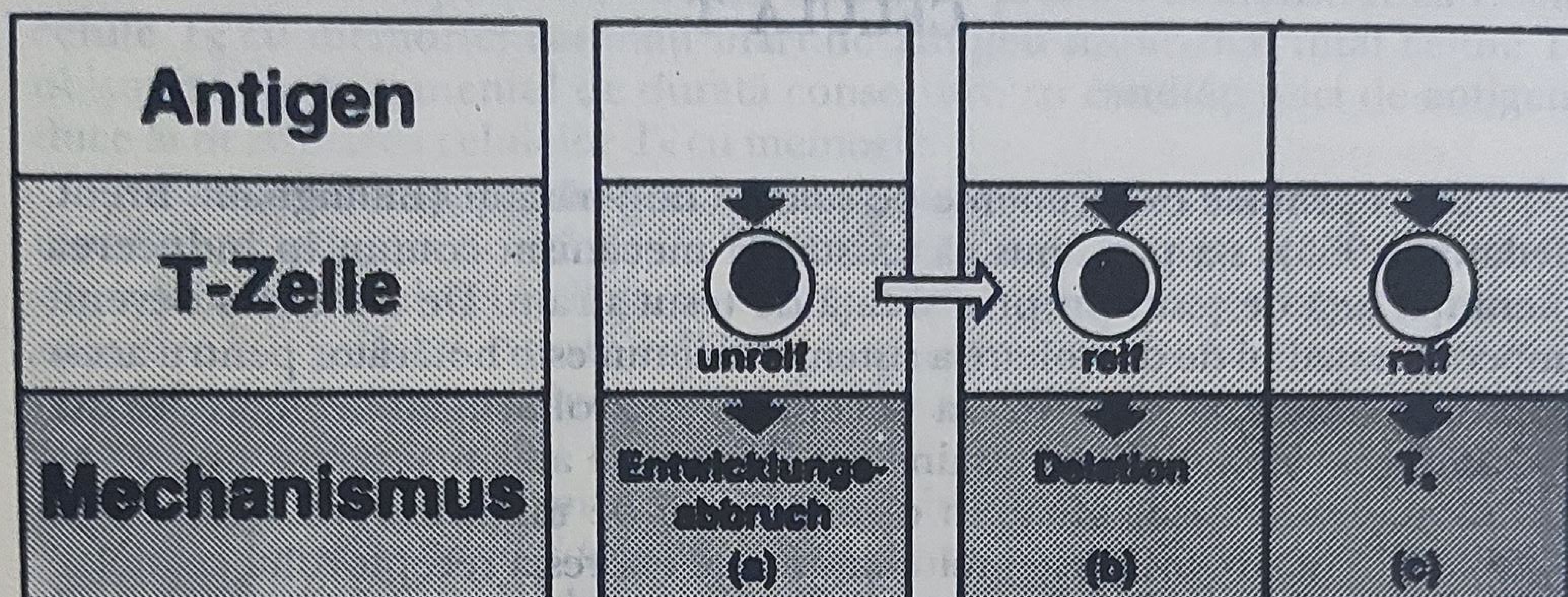


Fig. 41. Mecanismul toleranței celulelor T.

Alte examinări au arătat că interacțiunea precursorilor celulelor $CD4^+8^+$ cu complexul (MHC+peptid), exprimat pe macrofage sau pe celule dendritice, duce la moartea celulei T prin apoptoză și deci la eliminarea ei („clonal abortion"), (Ramsdell et al. 1990). Apoptoza se produce prin activarea endonucleazei endogene. Aceasta duce la scindarea cromatinei și condensarea nucleului celulei. Apoi celulele muribunde vor fi recunoscute de receptorul pentru vitronectină de pe macrofage și vor fi fagocitate (savill et al. 1990).

Se presupune că celulele T într-un stadiu de dezvoltare mai tardiv vor fi inactivate prin contactul cu complexul (MHC+peptid) de pe celulele epiteliale timice. Cauza acestei inactivări (anergie) constă în faptul că celulele epiteliale pot transmite numai un semnal (MHC+peptid) celulei T. Pentru activare celula T necesită un al doilea semnal (costimulator). Rolul principal al celulelor epiteliale constă de fapt în selectarea pozitivă a celulelor T în cursul dezvoltării lor ontogenetice.

B. DELEȚIA CLONALĂ

Cu toate că marea majoritate a încercărilor de inducere a toleranței la animale adulte indică faptul că mecanismul se desfășoară prin factori supresori sau prin celule supresoare (Möller 1989), există și indicii că în anumite circumstanțe un rol îl joacă deleția celulelor T.

Transfuzii sanguine duc în anumite condiții la prelungirea supraviețuirii transplantului la animal (Halasz et al. 1964) și la om (Opelz et al. 1973). Apare o toleranță incompletă. Au fost făcute răspunzătoare pentru acest efect mai multe mecanisme (Brunson, Alexander 1988), printre ele și deleția celulelor T specifică față de donator (Takiff et al. 1987, Eto et al. 1990). S-a stabilit următoarea ipoteză:

În prima fază sunt activate clone de celule T de către celulele străine transfuzate. Dacă receptorul primește mai târziu un rinichi care posedă antigene comune cu donatorul de sânge premergător, atunci limfocitele anti-donator sensibilizate vor fi rapid reactivate și distruse prin administrarea concomitentă de imunosupresoare. Apare o deleție selectivă a celulelor îndreptate împotriva donatorului.

Următoarele argumente susțin această ipoteză (Terasaki 1984):

– Cel mai puternic efect al transfuziei se obține prin combinarea cu imunosupresoare. Astfel, de exemplu, rinichii la primitori tratați cu transfuzii sanguine și ALS au supraviețuit mai mult decât la cei tratați doar cu ALS (Spees et al. 1980). Aceste observații clinice au fost susținute de date experimentale la animal (Brent et al. 1973). Dar nu există experimente care arată că și transfuziile sanguine singure au efect protector asupra transplantului (Terness et al. 1988).

– Un rejet tratat cu succes cu imunosupresoase este urmat de o supraviețuire îndelungată a rinichiului transplantat. Cauza este eliminarea clonelor reactive față de donator. Dacă se reușește eliminarea tuturor clonelor anti-donator se obține integrarea definitivă a rinichiului.

– Corticosteroizii, frecvent folosiți pentru tratamentul rejetului, au un efect limfocitotoxic și antiproliferativ. Astfel vor fi eliminate limfocitele sensibilizate prin transfuzia sanguină. Un efect asemănător îl au și alte imunosupresoare.

– Există studii care arată că transfuziile sanguine de la viitorul donator de rinichi au un efect pozitiv asupra transplantului (Salvatierra et al. 1980, 1981). Explicația constă în activarea țintită și eliminarea clonei anti-donator.

Efectul pozitiv al transfuziei sanguine asupra transplantului poate fi semnificativ accentuat prin acoperirea celulelor sanguine înainte de transfuzii cu anticorpi anti-donator (Terness et al. 1988). Hutchinson și Zola (1977) au demonstrat că imunizarea cu antigene acoperite cu anticorpi duce la deleția celulelor T specifice. Mecanismul, desemnat ca opsonizare celulelor reactive la antigen – Antigen-Reactive-Cell-Opsonization- (ARCO), se desfășoară în modul următor: celulele T ale primitorului se leagă de antigenele donatorului administrate. În același timp însă, macrofagele donatorului se leagă de antigenele acoperite de anticorpi. Astfel întregul complex imun, inclusiv celulele T anti-donator, va fi fagocitat. Rezultă deleția celulelor T reactive față de donator.

C. CELULELE T SUPRESOARE

Există indicii ca T_S ar participa la inducerea toleranţei. Prima dovadă a fost adusă prin experimente de transfer (Dorsch, Roser 1975). Şobolanilor primitori (receptori) (DA) li s-a transplantat piele de la şobolani PVG sau ALB. Ambele transplante au fost rejetate în decurs de câteva zile. Dacă însă receptorii au primit celule T de la şobolani DA, care în prealabil au fost făcuţi toleranţi în perioada neonatală faţă de PVG, atunci acest fapt a impiedicat rejetul transpalntului PVG, pe când transplantul ALB a fost rejetat în mod normal. Aceasta dovedeşte că limfocitele „tolerante" transferate conţin celule supresoare care inhibă în mod specific răspunsul imun faţă de PVG. Dacă toleranţa s-ar fi produs exclusiv prin deleţie clonală, nu ar fi trebuit să apară prelungirea supravieţuirii transplantului după transferul celular.

Alte studii din aceeaşi serie au arătat că celulele T_S ale animalelor tolerante sunt anti-idiotipuri. Aceste T_S anti-idiotip sunt îndreptate împtriva acelor celule T care recunosc antigenele de clasa II ale donatorului (Roser, 1989). Încercările de depresie „in vitro" şi de transfer „in vivo" au putut defini celulele supresoare ca limfocite mici, recirculante. Au fost descrise celule T anti-idiotip şi într-un model de transplant renal la şobolan (Lancaster et al. 1985). Animalele receptoare, făcute tolerante în prealabil prin tratament cu celule de donator sau cu imunosupresoare, au primit un rinichi allogen. Durata de supravieţuire a transplantului a fost mult prelungită. În splina acestor animale au existat celule supresoare care au inhibat specific reacţia de rejet în experimente de transfer. T_S au proliferat „in vitro" atunci când au fost stimulate cu limfoblaşti de receptor anti-donator. Limfoblaştii, îndreptaţi împotriva unui al treilea donator, nu au indus stimularea. Aceste rezultate indică faptul că T_S recunosc şi suprimă specific (prin determinantele lor idiotipice), celulele T receptor anti-donator.

O clonă specială de celule supresoare sunt *celulele veto*. Acestea sunt celule de donator care suprimă toate limfocitele primitorului îndreptate împotriva lor (Miller 1980). Celule T citotoxice pot funcţiona ca celule veto indiferent de specificitatea receptorului lor pentru antigen. În următorul experiment s-a produs deleţia clonală funcţională a celulelor T anti-donator prin activarea celulelor veto. La şoareci primitori au fost injectate celule splenice incompatibile de clasa I. Frecvenţa celulelor T citotoxice anti-donator a scăzut drastic după tratament. Scăderea se datorează faptului ca limfocitele anti-donator ale primitorului s-au legat de celulele veto incompatibile de clasa I injectate şi au fost excluse funcţional de către acestea (Rammensee et al. 1984). Excluderea s-a produs mai ales prin supresie şi nu prin citotoxicitate (ucidere).

Într-un experiment elegant Sercarz et al. (1989) a reuşit să dovedească că unele antigene conţin secvenţe de peptide care activează celulele T_H, iar

alte secvențe activează celulele T_S. Dacă areactivitatea unor sușe de șoareci față de un antigen se datorează inducerii de celule T_S îndepărtarea acelor determinante ale antigenului ce induc celule T_S, ar trebui să anuleze areactivitatea animalului. Într-adevăr, s-a putut demonstra ca prin scindarea anumitor aminoacizi, un antigen supresiv poate fi transformat în unul imunogen. Imunizarea cu acest antigen „amputat" a dus la activarea celulelor T_H la sușele areactive.

6. PACEA DIN WESTFALIA?

Războiul de 30 de ani privind toleranța imună s-a derulat între partizanii deleției clonale și cei ai inducerii celulelor T_S. Între timp s-au adăugat și apologeți ai altor teorii, care și-au prezentat mecanismul lor ca determinant în inducerea toleranței. Situația îmi amintește de parabola orbilor din mitologia orientală. Mai mulți orbi au fost rugați să descrie un elefant. Primul s-a apropiat de elefant, a nimerit din greșeală piciorul, l-a pipăit și a spus: „Elefantul este un drug gros". Al doilea a dat de coadă, a explorat-o și apoi a spus: „Elefantul este o funie." Al treilea a nimerit colții, i-a examinat și a spus: „Elefantul este o săgeată". Fiecare dintre orbi a descris un aspect real, existent al acestui animal: picioarele, coada, colții; și în felul său a avut dreptate. Un elefant nu este însă compus numai din picioare, coadă sau colți, ci din totalitatea acestor elemente.

În domeniul cercetării toleranței, a devenit limpede între timp, că nu există un mecanism unitar pentru inducerea toleranței. În unele experimente se produce deleția, în altele formarea de celule T_S, iar în altele participă ambele mecanisme. În plus există și alte căi de formare a toleranței cum ar fi: anergia clonală (Quin et al. 1989), factori supresori (Wood și Monaco 1977) sau adaptarea transplantului (graft adaptation) (Hall 1984).

Multitudinea mecanismelor care participă concomitent la inducerea toleranței a fost evidențiată în experimente recente pe șoareci. La animale adulte primitoare s-a indus toleranța prin tratament cu celule donatoare și Ciclofosfamidă (Eto et al. 1990). Cercetările au arătat că la primitori (receptori) s-au produs următoarele modificări imunologice: distrugerea celulelor T periferice reactive față de donator prin Ciclofosfamidă, deleția clonală intratimică a celulelor T specifice, dezvoltarea de celule T_S specifice, anergie clonală și fenomenul de himeră intratimică.

Cu toate că lucrările ultimelor decenii au înregistrat mari progrese în elucidarea mecanismelor de inducere a toleranței, nu s-a reușit până astăzi dezvoltarea unui model convingător cu utilitate clinică.

Cele mai multe modele experimentale reușite se bazează fie pe manipulare la nou-născuți, fie pe metode extrem de invazive cum ar fi iradierea cu doze mari, cantități toxice de citotoxice etc. Pe lângă efectele secundare brutale aceste tratamente duc și la o supresie generală, neselectivă. Abia în ultimii ani s-au conturat metode care ar putea fi aplicabile în clinică.

Pornind de la necesitățile practice ale transplantului clinic am dezvoltat un model care poate fi ușor realizat tehnic, nu duce la efecte secundare toxice, și care permite un răspuns imun intact față de alte antigene.

După perfecționarea modelului experimental pentru prelungirea supraviețuirii transplantului renal, am arătat ca sub același tratament poate fi suprimată sensibilizarea umorală după transfuzii de sânge sau de trombocite. Cercetând mecanismul supresiei induse, am descoperit un anticorp reglator care se formează în timpul răspunsului imun fiziologic. Acest rezultat a dus la descrierea unui nou mecanism reglator imun ce reglează răspunsul anticorpic al celulelor B împotriva alloantigenelor sau autoantigenelor.

II. MODEL EXPERIMENTAL

1. IMUNIZAREA CU ANTIGENE DE DONATOR: O SABIE CU DOUĂ TĂIȘURI

Supraviețuirea transplantelor în cadrul aceleiași specii (allotransplante, allogrefe), depinde de compatibilitatea dintre donator și receptor. La indivizii din specii diferite transplantele (xenotransplante, xenogrefe) vor fi de obicei foarte rapid rejetate. Însă transplantele de la gemeni monozigoți (izotransplante, izogrefe), sau de la același individ (autotransplant, autogrefă), se integrează definitiv.

De cele mai multe ori allotransplantele supraviețuiesc intervenției chirurgicale la fel de bine ca și izotransplantele. Dacă primitorul nu este imunizat în prealabil cu antigenul donatorului, atunci allotransplantele în faza post-operatorie precoce abia pot fi deosebite macroscopic de izotransplante. Astfel, de exemplu, Medawar (1944) a arătat în experimentele sale clasice privind demonstrarea originii imunologice a reacției de rejet, că transplantele de piele între iepuri neînrudiți au aspect „normal" în primele zile după intervenție. Abia după mai multe zile apar semnele unei inflamații sub forma

unui infiltrat leucocitar. Aproximativ în a zecea zi apare necroza. Acesta este „first set rejection".

Dacă receptorul primeşte un al doilea transplant de la acelaşi donator, apare un rejet accelerat, aşa-numitul „second set rejection". Cum am mai amintit înainte, această reacţie este specifică; se referă doar la donator, faţă de ale cărui antigene primitorul a fost sensibilizat.

La nivel celular însă, în caz de rejet vor fi activate pe lângă limfocitele îndreptate împotriva donatorului şi numeroase celule nespecifice. Unul din primele studii care a demonstrat acest lucru a fost realizat de către Najarian şi Feldman (1962). Aceste experimente au arătat că numai 1% din infiltratul din ţesutul rejetat conţinea limfocite specifice anti-donator. Restul a fost reprezentat de celule nespecifice activate. Aceste infiltrate nespecifice apar secundar, ca urmare a reacţiei specifice. Studiile experimentale clasice la animal ale lui Mitchinson şi Dube (1955), au demonstrat că sensibilizarea specifică faţă de un transplant poate fi transferată la alt animal cu ajutorul limfocitelor dar nu prin ser. Acest fapt, confirmat ulterior şi de alţi autori, a dus la presupunerea că la rejet participă predominant celule T.

Cu toate că a fost dificil să se realizeze un rejet cu anticorpi anti-donator în experimentele de transfer, există un acord comun că anticorpii anti-donator preformaţi, adică anticorpii deja prezenţi în momentul transplantului, cauzează la om un rejet hiperacut (Patel şi Terasaki 1969).

Lezarea transplantului este realizată de citotoxicitatea celulară mediată de anticorpi, activarea complementului şi activarea endotelială consecutivă, eliberarea de kinine, respectiv peptide vasoactive şi activarea cascadei coagulării. Această formă de rejet se dezvoltă foarte rapid după transplant, şi poate fi observată uneori chiar în cursul operaţiei în caz de transplante vascularizate primar. Organul transplantat prezintă după reperfuzia sanguină numai pentru scurt timp o culoare şi o consistenţă normală, devine apoi cianotic în pete şi se edematiază. Dacă rejetul hiperacut apare numai la câteva ore după operaţie, primul simptom poate fi dispariţia funcţiei deja reluate. Echivalentul rejetului hiperacut în transplantul de piele este „white graft phenomenon" (fenomenul transplantului alb) care indică faptul că pielea transplantată nu a fost vascularizată niciodată. Faptul că anticorpii sunt importanţi în rejetul hiperacut nu exclude participarea mecanismelor celulare (Kristensen et al. 1976; Kirkman et al. 1979).

Rejetului hiperacut din clinică îi corespunde „second set rejection" din experimentele pe animal. Absenţa timpului de latenţă pentru dezvoltarea semnelor de rejet indică faptul că reacţia imună faţă de donator nu trebuie mai întâi activată, ci este deja prezentă. Această presensibilizare se realizează în principal prin transfuzii sanguine, sarcini sau transplante anterioare. Dacă există deja anticorpi împotriva antigenelor clasa I HLA, apare cu mare probabilitate un rejet hiperacut (Patel şi Terasaki 1969; Carpenter et al. 1976). Nu

este sigur dacă şi anticorpii împotriva antigenelor clasa II HLA joacă un rol în rejet (Ting et al. 1978). În afara anticorpilor HLA preformaţi există anticorpi îndreptaţi împotriva antigenelor de grup sanguin. Aceşti anticorpi sunt răspunzători pentru rejetul hiperacut în transplantele ABO-incompatibile. Cei mai mulţi primitori mai au şi aşa-numiţi anticorpi „naturali" îndreptaţi împotriva ţesuturilor altor specii, şi care duc la rejetul transplantelor xenogene (Hardy et al. 1984).

Datele prezente arată că imunizarea cu antigene de donator implică pericolul unui rejet hiperacut. Întrucât această formă de rejet este în mare parte rezistentă la tratament şi de aceea foarte temută, s-a dat în trecut o mare importanţă evitării alloimunizărilor primitorului prospectiv de transplant. În clinică cea mai importantă cauza pentru o alloimunizare este transfuzia. Astfel, ani de-a rândul s-au evitat transfuziile la primitorii prospectivi de transplant.

În ciuda tuturor aşteptărilor, Opelz (1973), a arătat că primitorii care înainte de transplant au primit transfuzii sanguine, au prezentat un timp de supravieţuire a rinichiului transplantat mai bun decât primitorii netransfuzaţi.

Mecanismul efectului transfuziei sanguine a rămas în parte neexplicat. Diferitele ipoteze emise în cursul timpului pot fi clasificate în trei grupuri (Brunson şi Alexander 1988):

– **Ipoteza selecţiei;** conform căreia transfuziile sanguine duc la identificarea acelor pacienţi care reacţionează puternic imun împotriva unui donator dat. În scenariu transfuzia sanguină acţionează ca un „test de provocare cu antigen". La un pacient cu reactivitate pregnantă faţă de antigenele HLA ale celulelor sanguine transfuzate apare un titru de anticorpi foarte mare. Acest pacient va fi mai târziu exclus de la transplant pe baza unei probe încrucişate pozitive faţă de un donator cu aceleaşi antigene HLA.

– A doua posibilitate este inducerea unei **supresii specifice** faţă de alloantigenele transfuzate. Dacă organul transplantat conţine antigene comune cu celule transfuzate, apare un timp mai lung de supravieţuire a transplantului. În experimentul pe animal se pare într-adevăr ca numai transfuziile cu celule care prezintă antigene comune cu donatorul transplantului pot prelungi supravieţuirea transplantului. În acest caz se produce, după cum am descris mai înainte, deleţia sau inactivarea clonei limfocitare reactive faţă de donator. Se presupune că mecanismele active de supresie sunt mijlocite prin intermediul anticorpilor anti-idiotip sau prin celule T supresoare.

– A treia posibilitate este **supresia nespecifică.** Următoarele modificări imunologice pot fi produse de transfuziile sanguine: scăderea raportului T_H/T_S, scăderea activităţii NK, diminuarea prezentării de antigen de către macrofage, supresia blastogenezei limfocitare şi inhibarea reacţiei de hipersensibilizare de tip tardiv.

Cum poate o transfuzie de sânge să determine atâtea modificări? O explicaţie ar fi că transfuzia duce la o supraîncărcare a sistemului reticulo-

endotelial și că sărurile de fier rezultate ar fi răspunzătoare pentru variatele efecte funcționale. În plus s-a arătat că după transfuziile sanguine se produce o scădere a producției de IL2, o creștere a producției de prostaglandină E2, precum și modificări ale fibronectinei și ale activității complementului. Toți acești mediatori au efecte imunoregulatoare.

În cursul ultimilor ani a fost tot mai dificil de dovedit prin studii statistice efectul pozitiv al transfuziilor sanguine asupra supraviețuirii transplantului renal (Opelz 1987+1988). În mod interesant aceste studii au indicat că în această perioadă rata de succes la pacienții netransfuzați s-a îmbunătățit evident. Astfel a diminuat diferența față de pacienții transfuzați. O explicație posibilă a ameliorării ratei de supraviețuire la grupul netransfuzat ar putea fi transplantele programate la pacienți netransfuzați, acordându-se o atenție deosebită recunoașterii precoce a rejetului și un tratament imunosupresor în doze mai mari. Analiza altor parametri cum ar fi: compatibilitatea HLA, anticorpi preformați, vârsta, rasa, sexul, boala inițială, nu a putut explica acest fenomen.

Faptul că contactul cu un antigen străin nu duce obligatoriu la imunitate, ci în anumite condiții duce la dezvoltarea unei stări de imunosupresie specifică, este susținut și de cercetări experimentale.

Deja la începutul secolului nostru s-a știut că în transplantul de tumori se poate obține o creștere mai bună prin preimunizare cu celule tumorale inactivate (Flexner și Jobling 1907). Kaliss et al. (1953) au putut demonstra că ameliorarea creșterii tumorii poate fi transferată prin ser, și mai târziu au putut arăta că fracția imunoglobulinică a serului este componenta hotărâtoare (Kaliss și Kandutsch 1956). Observații asemănătoare au fost făcute și în legătură cu integrarea unui țesut normal. Chiar Medawar (1946), părintele fenomenului de „second set rejection", nu a obținut întotdeauna rejet accelerat prin alloimunizare. În cercetările noastre s-a transfuzat de trei ori la interval de o săptămână sânge de la un donator incompatibil la șobolani primitori. La o săptămână de la ultima transfuzie receptorii au fost nefrectomizați bilateral, și apoi li s-a transplantat un rinichi de la același donator (Schiffl, Terness și Opelz 1985, Terness et al. 1988). Receptorii transfuzați au prezentat o durată de supraviețuire semnificativ mai lungă în comparație cu martorii netransfuzați (tabelul 1). O prelungire semnificativă a supraviețuirii transplantului renal au obținut și Stuart et al. (1968), prin tratamentul receptorului cu antigene de donator.

La șobolani LEW s-au administrat câte un 1 ml de sânge BN de 3 ori la interval de o săptămână. Grupul de control nu a primit nici un tratament. După o săptămână s-a efectuat nefrectomia bilaterală a animalelor și li s-a transplantat un rinichi BN. Șobolanii primitori au fost tratați cu celule splenice vii de la donator cu 24 de ore înainte de transplant, și apoi zilnic, până la 62 de zile după transplant. Ockner et al. (1970) au injectat la șobolani primitori măduva osoasă de la viitorul donator de rinichi. Dacă tratamentul a

fost efectuat cu 1–2 săptămâni înainte de transplant, nu s-a produs prelungirea duratei de supraviețuire a transplantului. Dacă tratamentul a precedat transplantul cu mai mult de patru săptămâni s-a produs un rejet accelerat.

Tabelul 1

Efectul transfuziilor sanguine donator-specifice asupra supraviețuirii transplantului

	Netratați	Transfuzați
Timp de supraviețuire (zile)	6, 9, 9, 11, 7, 9, 6, 9, 12, 7, 8, 9, 10, 8, 7,	20, 25, 17, 36, 7, 17, 39, 25, 34, 7, 6, 454

Nu numai intervalul de timp între pretratament și transplant, ci și cantitatea de celule ale măduvei osoase administrată a fost hotărâtoare pentru durata de supraviețuire. Cu cât a fost mai mare numărul de celule injectate, cu atât mai puternică a fost supresia obținută. Efectul supresiv a putut fi transferat la alte animale netratate folosind serul, respectiv fracția imunoglobulinică a acestuia. În unele studii s-a reușit prelungirea duratei de supraviețuire a unor rinichi allogeni la câini sau maimuțe Rhesus prin transfuzii sanguine (Halasz et al. 1964; Es et al. 1977). Pretratamentul cu celule splenice de la donator a dus la prelungirea duratei de supraviețuire a transplantului la câine, numai prin combinarea cu tratamentul imunosupresiv (Wilson et al. 1969).

Din cele expuse până acum devine limpede că alloimunizarea poate duce atât la un rejet accelerat, cât și la o supraviețuire prelungită a transplantului. Condițiile exacte sub care apare imunitatea sau supresia nu sunt cunoscute. Mecanismele supresiei sunt de asemenea incomplet elucidate. Astfel, imunizarea cu antigene de la donator rămâne în ciuda potențialului ei pozitiv o sabie cu două tăișuri pentru transplantul clinic.

2. ANTIGENE DE DONATORI ACOPERITE CU ANTICORPI: IEȘIREA DIN DILEMĂ?

A. SUPRAVIEȚUIREA PRELUNGITĂ A TRANSPLANTULUI RENAL

Într-un caz de pretratament ideal al primitorului de transplant cu antigene de donator, sensibilizarea ar trebui să fie împiedicată, iar mecanismul supresor să fie menținut. În studiile noastre, antigenele de donator au

fost acoperite cu anticorpi înainte de tratamentul primitorului. Am pornit de la presupunerea că sistemul imun al primitorului nu poate „vedea“ antigenele mascate, și astfel nu se produce sensibilizarea.

Efectul anticorpilor anti-donator asupra supraviețuirii transplantului a mai fost studiat în lucrări anterioare (Kaliss și Molumut, 1952), care au arătat că anticorpii anti-donator administrați la șoarece au favorizat creșterea tumorală. Aceste experimente au stabilit termenul de „passive enhancement“ (accentuare pasivă). În alte lucrări ulterioare s-a încercat prelungirea supraviețuirii transplantelor de piele cu alloanticorpi. Încercările au fost însă nereușite cu mici excepții. Astfel acest model a pierdut interesul clinicienilor. Dezvoltarea tehnicilor microchirurgicale la sfârșitul anilor '60 a permis efectuarea unor transplante de organe vascularizate la șobolani. Astfel a devenit din nou posibilă studierea folosirii „passive enhancement“-ului pentru prelungirea supraviețuirii transplantului. Stuart et al. (1968), precum și French și Batchelor (1969) au obținut pentru prima dată o prelungire evidentă a supraviețuirii transplantului renal la șobolani prin administrarea de anticorpi anti-donatori. Ulterior s-a studiat fenomenul de „passive enhancement“ în numeroase modele de transplant renal sau cardiac (Morris 1980). În cele mai multe experimente anticorpul specific donatorului a fost injectat în momentul transplantului sau la scurt timp după. Motivul pentru care nu s-a ajuns la lezarea transplantului a fost evident faptul că experimentele au fost efectuate pe șobolani, o specie care prezintă o rezistență relativă față de lezarea transplantului mediată de anticorpi. Cauza acestei rezistențe este o posibilă diminuare a capacități de atac a complementului. Dacă însă se administrează concomitent cu anticorpii anti-donatori complement de cobai, apare imediat distrucția rinichiului transplantat (French 1972). Cantități foarte mari de anticorpi pot duce chiar și la șobolan la rejet accelerat (Fabre și Morres 1973). După cum am amintit anticorpii determină la om un rejet hiperacut (Patel și Terasaki 1969). De aceea nu a fost posibilă studierea clinică a efectului anticorpilor anti-donator asupra supraviețuirii transplantului. În studii alternative s-a încercat folosirea fragmentelor F (ab')2. Aceste fragmente nu activează complementul și nu pot leza transplantul. Acest tratament nu a adus însă rezultatele scontate (French și Batchelor 1972; Holter et al. 1973; Winearls et al. 1979). Regiunea Fc a IgG-ului pare să fie determinantă pentru efectul imunosupresor (Sinclair 1979; Capel et al. 1979).

În studiile noastre s-au administrat numai anticorpi legați de antigene (nicidecum liberi!). Am ales un sistem strict incompatibil donator-primitor la șobolani (BN->LEW). Înainte de transplant primitorul a fost tratat de 3 ori la interval de o săptămână cu celule sanguine de donator acoperite cu anticorpi (fig. 42). Acoperirea celulelor s-a făcut cu anticorp primitor anti-donator (LEW-anti-BN). Acest anticorp a fost fabricat prin imunizare repetată (i.v.) a șobolanilor LEW cu sânge BN. El a fost îndreptat atât împotriva clasei I MHC.

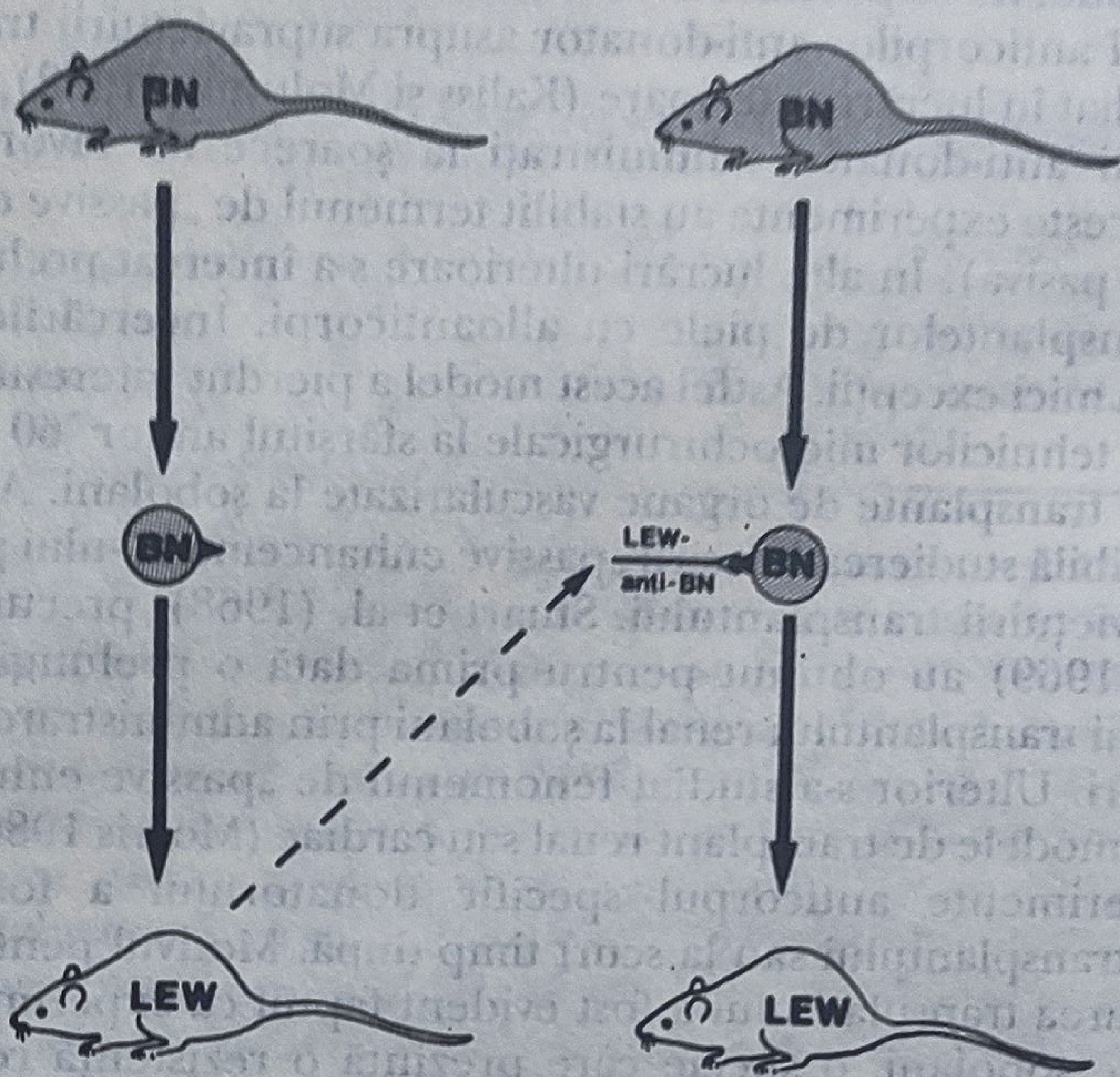


Fig. 42. Imunizarea cu celule acoperite cu anticorpi. a) Șobolani LEW au primit în zilele 0, 7 și 12 câte 1 ml sânge BN (i.v.). Trei zile mai târziu s-a colectat serul primitorilor (cu titru mare de anticorpi anti-BN). b) Sângele BN (1 ml) a fost incubat cu 0,05 ml ser LEW-anti-BN timp de 30 de minute la 22 °C. Celulele sanguine au fost spălate de 3 ori și resuspendate în 1 ml PBS. Șobolanii LEW au fost imunizați cu 1 ml celule BN acoperite cu anticorpi, de 3 ori la interval de câte o săptămână.

cât și împotriva antigenelor de clasa II. Anticorpul antidonator a acoperit exact acele determinante care sunt de obicei recunoscute de limfocitele primitorului. Pentru a fi siguri că nu s-a injectat la primitor nici un anticorp liber(nelegat), după acoperirea cu anticorpi celulele au fost spălate riguros. Chiar dacă pornim de la presupunerea improbabilă că toți anticorpii s-ar dezlipi de celulele acoperite, la cantitatea de anticorpi folosită (0,05 ml) deja la o zi de la injectare nu mai există activitate antidonator în serul primitorului (Terness și Opelz 1985 a). Transplantul renal s-a efectuat la 7 zile după imunizare. Primitorul a fost nefrectomizat bilateral și nu a primit imunosupresoare (Schiffl, Terness și Opelz 1985; Terness et al. 1988). Rezultatul acestui studiu este reprezentat în figura 43.

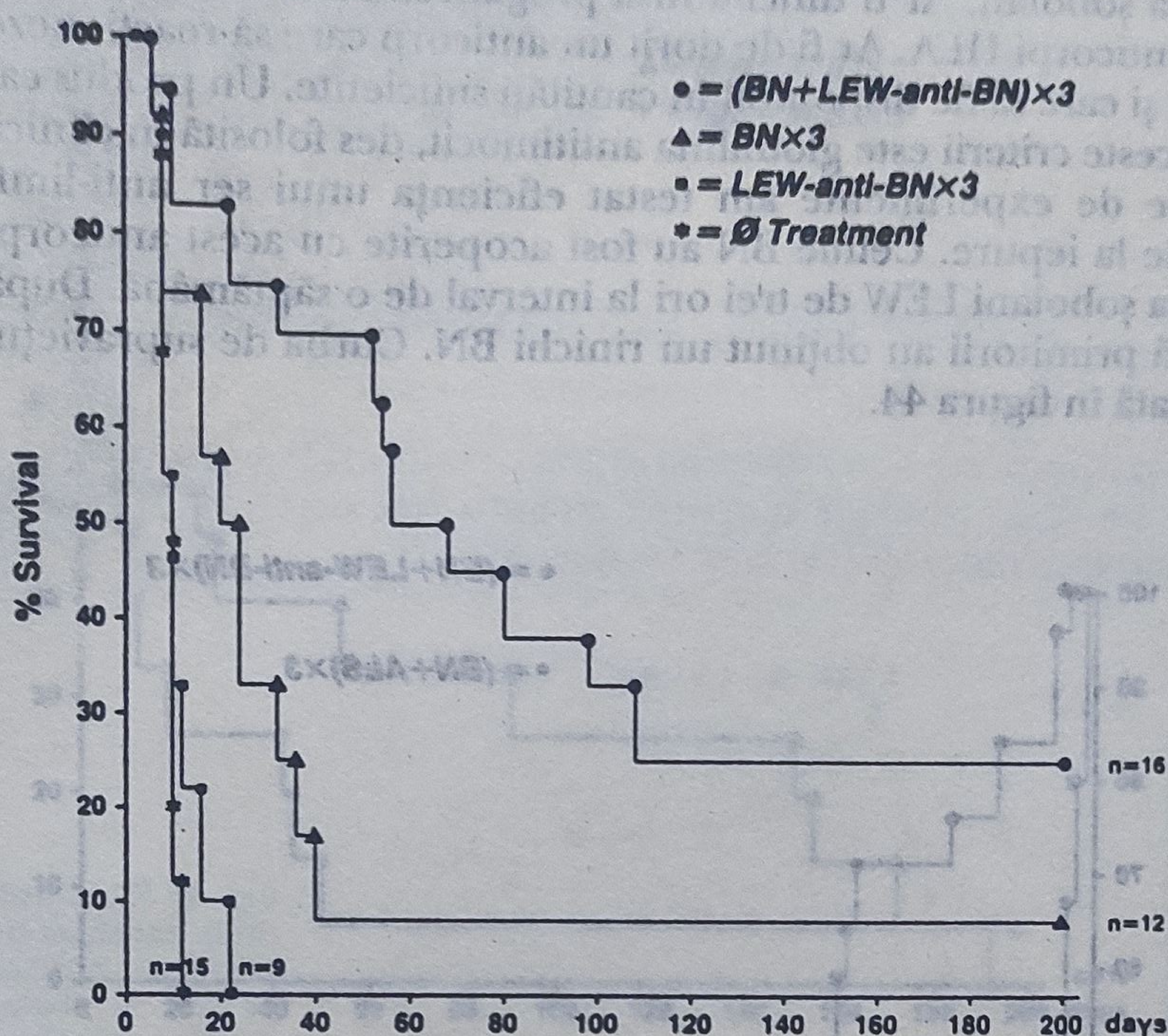


Fig. 43. Supraviețuirea transplantului renal după tratament cu celule de donator acoperite cu anticorpi (primitor anti-donator). La o săptămână după 3 tratamente cu 1 ml de celule sanguine BN acoperite cu anticorpi, 1 ml sânge BN sau 0,05 ml ser LEW anti-BN, șobolanii LEW au fost nefrectomizați bilateral, și apoi li s-a transplantat un rinichi BN. Animalele nu au primit imunosupresoare. Timpul de supraviețuire a primitorilor care au fost imunizați cu celule acoperite cu anticorpi (curbe Kaplan-Meier), a fost semnificativ mai lung (124±36 zile) decât cel al primitorilor care au primit ser anti-donator (11±1,7 zile) ($P<2x10^{-3}$), sânge de donator (21±3,6 zile) ($P<2x10^{-2}$), sau fără nici un tratament (8,4±0,4 zile).

Grupul de control netratat a supraviețuit după transplantul de rinichi 8,4±0,4 zile. După imunizarea cu celule acoperite cu anticorpi s-a obținut o supraviețuire de 124±36 zile. Trei dintre cei 16 primitori au supraviețuit 310, 326, 512 zile. Grupul de control tratat cu anticorpi anti-donator au supraviețuit 11±1,7 zile, iar cel tratat cu transfuzii de sânge de la donator 21±3,6 zile (exclusiv un primitor cu 454 zile). Concluzia acestui experiment este limpede: imunizarea cu celule donatoare acoperite de anticorpi duce la prelungirea duratei de supraviețuire a transplantului.

În cazul folosirii metodei în această formă la om, ar trebui folosiți alloanticorpi (anticorpi HLA) pentru acoperirea celulelor, în mod analog cu

modelul la şobolan. Ar fi dificilă însă pregătirea unei cantităţi suficient de mare de anticorpi HLA. Ar fi de dorit un anticorp care să reacţioneze cu toţi donatorii, şi care să fie disponibil în cantităţi suficiente. Un produs care îndeplineşte aceste criterii este globulina antitimocit, des folosită în clinică. Într-o nouă serie de experimente am testat eficienţa unui ser anti-limfocit de şobolan de la iepure. Celule BN au fost acoperite cu acest anticorp şi apoi injectate la şobolani LEW de trei ori la interval de o săptămână. După încă o săptămână primitorii au obţinut un rinichi BN. Curba de supravieţuire este reprezentată în figura 44.

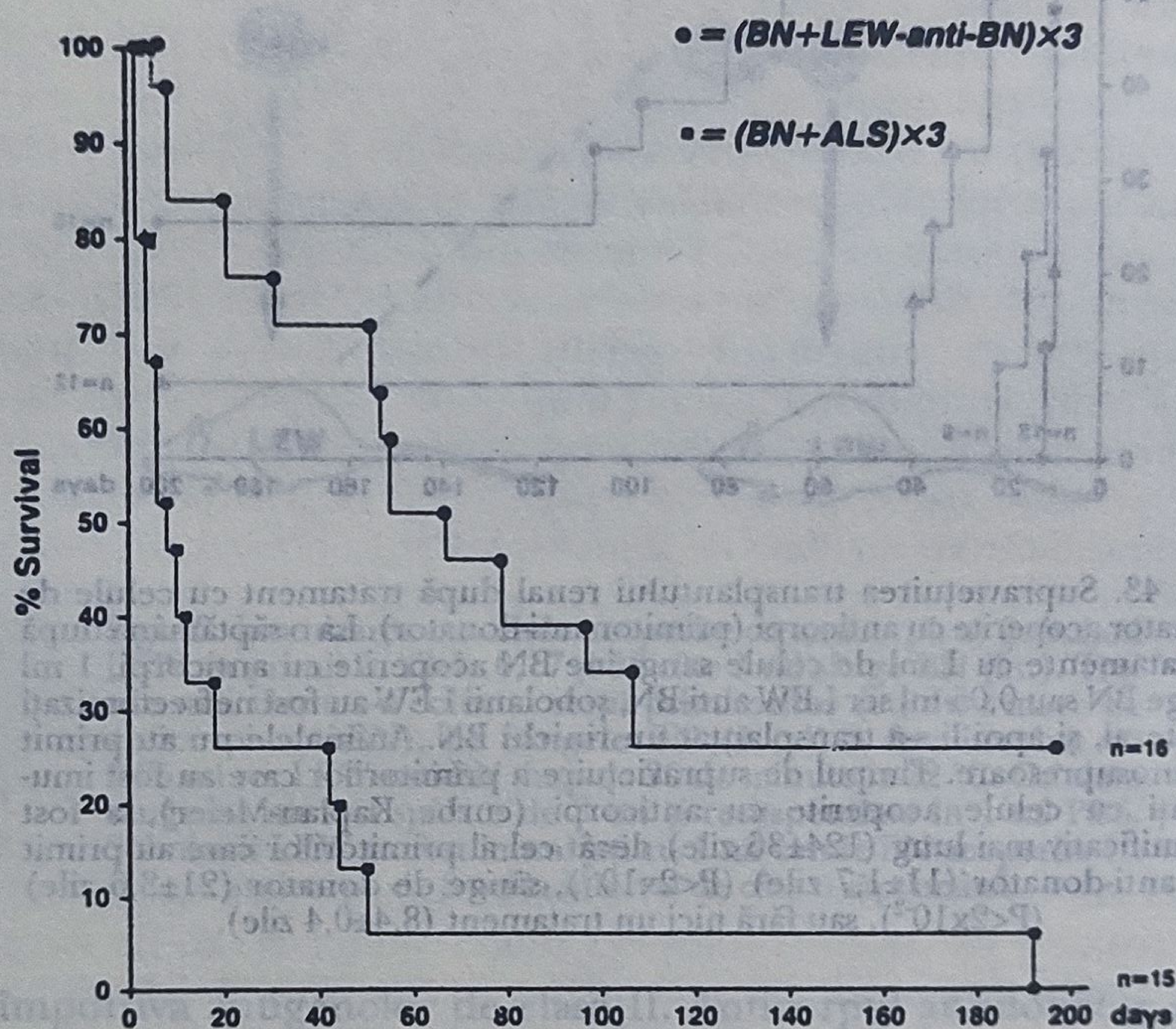


Fig. 44. Supravieţuirea transplantului după tratamentul de 3 ori cu celule de donator acoperite cu ALS. Sânge BN (1 ml) a fost incubat cu 0,025 ml ALS timp de 30 de minute la 22 °C şi apoi excesul de anticorpi a fost epurat. Şobolanii LEW au primit câte 1 ml celule BN acoperite cu ALS de 3 ori la interval de câte o săptămână. După o săptămână animalele au fost nefrectomizate bilateral şi li s-a transplantat un rinichi BN. 7 primitori au dezvoltat un rejet acut (3,6±0,7 zile). Cele 8 animale restante au avut un timp de supravieţuire de 47±22 zile. Timpul de supravieţuire după 3 tratamente cu celule acoperite cu ALS a fost mai scurt decât după 3 tratamente cu celule acoperite cu LEW-anti BN (124±36 zile), în cazul aplicării a 3 tratamente (P=0,05).

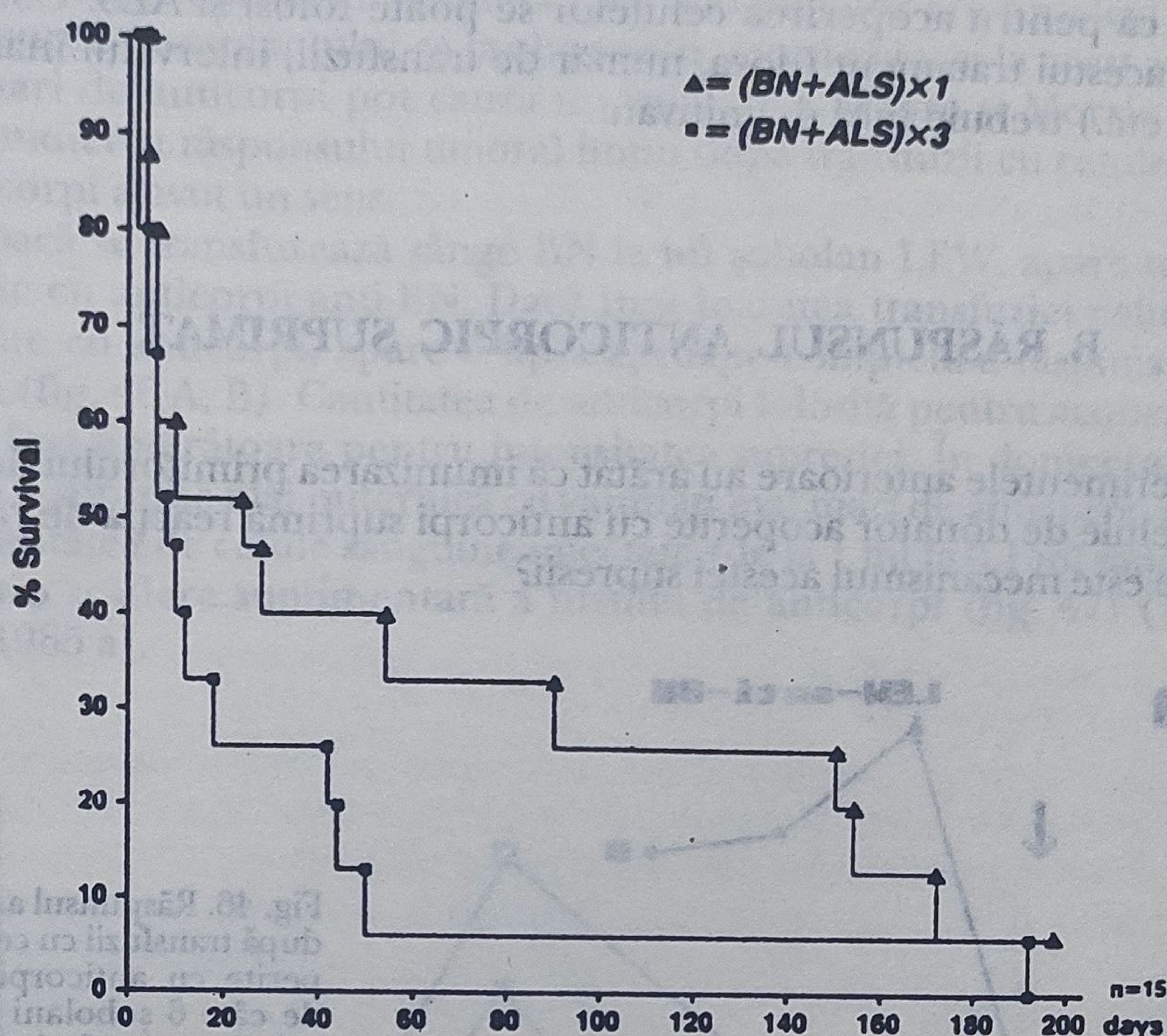


Fig. 45. Supraviețuirea transplantului renal după un singur tratament cu celule de la donator acoperite cu ALS. O grupă de 15 șobolani LEW a fost tratată o dată cu 1 ml celule BN acoperite cu ALS, iar o săptămână mai târziu, după nefrectomie bilaterală, li s-a transplantat un rinichi BN. 7 primitori au avut un rejet acut (4,7±0,6 zile), iar 8 primitori un timp de supraviețuire prelungit (130±39 zile). Timpul de supraviețuire după un tratament cu celule acoperite cu ALS a fost mai lung decât de 3 ori durata tratamentului (p=0,05).

În comparație cu primitorii tratați cu (LEW–anti–BN+BN), durata de supraviețuire a grupului ALS a fost mai scurtă. În orice caz au existat două subgrupuri: 7 primitori au dezvoltat un rejet acut (3,6±0,7 zile), iar 8 primitori au avut un timp de supraviețuire prelungit (47±22 zile). În grupul cu supraviețuire scurtă animalele au prezentat infecții fatale. Am avut impresia că durata mai scurtă de supraviețuire nu se bazează pe o eficiență mai mică a supresiei ci pe o supresie prea puternică. Pentru a diminua efectul imunosupresor, am transfuzat doar o dată primitorul cu celule de donator acoperite cu ALS. În acest fel s-a obținut într-adevăr o prelungire a timpului de supraviețuire în comparație cu grupul transfuzat de trei ori (fig. 45). Studiile

au indicat că pentru acoperirea celulelor se poate folosi şi ALS. Condiţiile exacte ale acestui tratament (doza, număr de transfuzii, intervalul înainte de transplant etc.) trebuie încă definitivate.

B. RĂSPUNSUL ANTICORPIC SUPRIMAT

Experimentele anterioare au arătat că imunizarea primitorului de transplant cu celule de donator acoperite cu anticorpi suprimă reacţia de rejet.

Care este mecanismul acestei supresii?

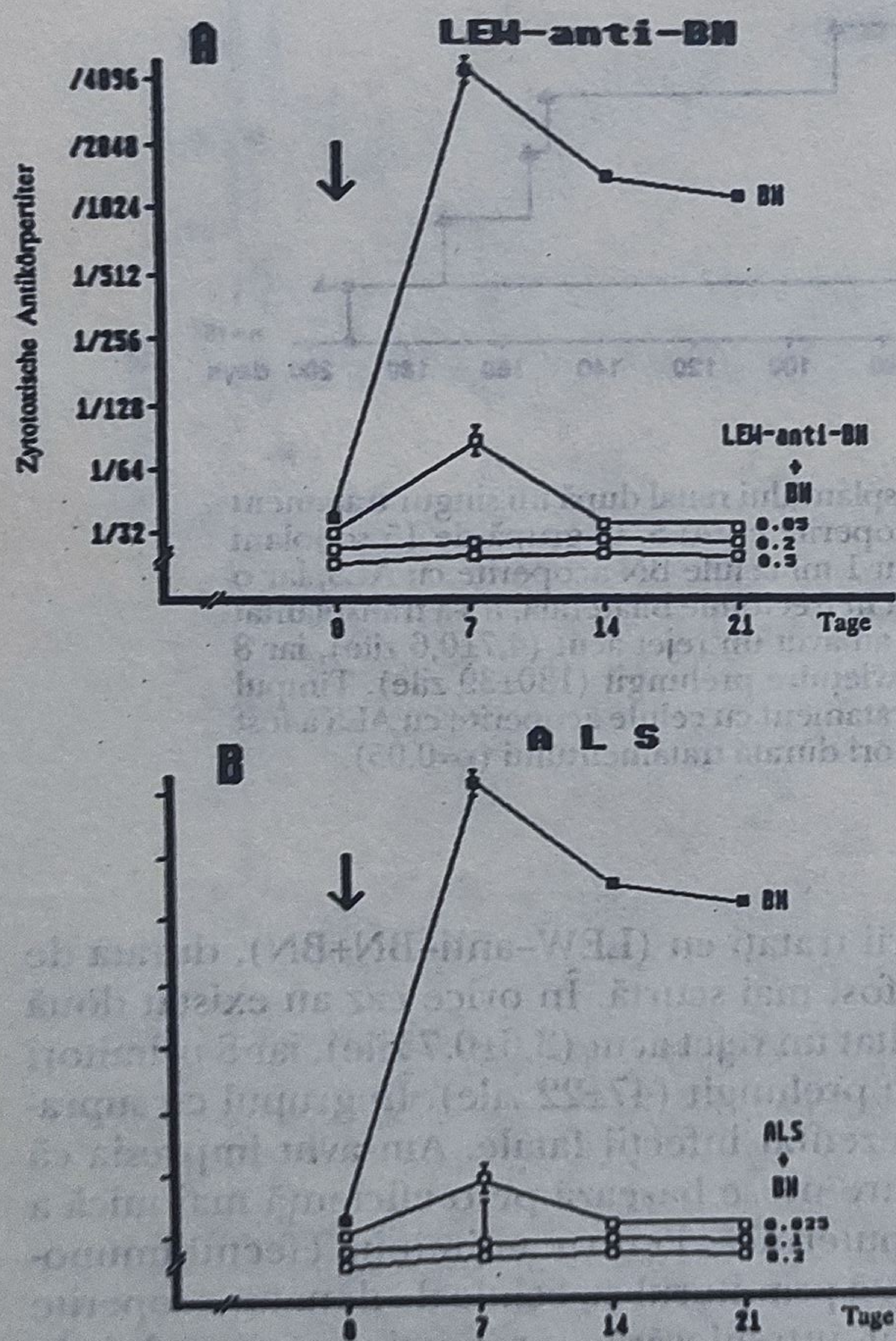


Fig. 46. Răspunsul anticorpic după transfuzii cu celule acoperite cu anticorpi. Grupe de câte 6 şobolani LEW au primit o transfuzie în ziua 0 cu 1 ml sânge BN (control), sau cu 1 ml celule sanguine BN acoperite cu anticorpi i.v. Înainte de a fi transfuzate, celulele sanguine au fost acoperite „in vitro" cu 2 antiseruri diferite: (A) 0,5; 0,2 sau 0,05 ml ser LEW-anti BN; sau (B) 0,2; 0,1 sau 0,025 ml ser anti-limfocite de şobolan de la iepure (ALS). În zilele 7, 14, 21 s-au determinat anticorpii citotoxici anti-BN. Titrurile de anticorpi (X±SEM) de la animalele tratate cu celule acoperite de anticorpi şi de la grupul de control au fost comparate între ele (pentru fiecare grup $P<2x10^{-1}$).

Cu toate că la șobolan anticorpul anti-donator are un efect mai puțin nociv asupra transplantului ca la alte specii, totuși chiar și la acest animal cantități mari de anticorpi pot cauza un rejet acut (Fabre și Morris 1973). De aceea studierea răspunsului umoral imun după transfuzii cu celule acoperite cu anticorpi a avut un sens.

Dacă se transfuzează sânge BN la un șobolan LEW, apare un răspuns puternic cu anticorpi anti-BN. Dacă însă înaintea transfuziei celulele vor fi acoperite cu anticorpi, apare o lipsă aproape completă a răspunsului imun umoral (fig. 46 A, B). Cantitatea de anticorpi folosită pentru acoperirea celulelor a fost hotărâtoare pentru intensitatea supresiei. În domeniul testat s-a obținut o supresie mai puternică cu cantități mai mari de anticorpi. Reducând însă cantitatea de celule sanguine injectate (de la 1 ml la 0,1 ml sânge), nu s-a obținut o scădere suplimentară a titrului de anticorpi (fig. 47) (Terness și Opelz 1985 a).

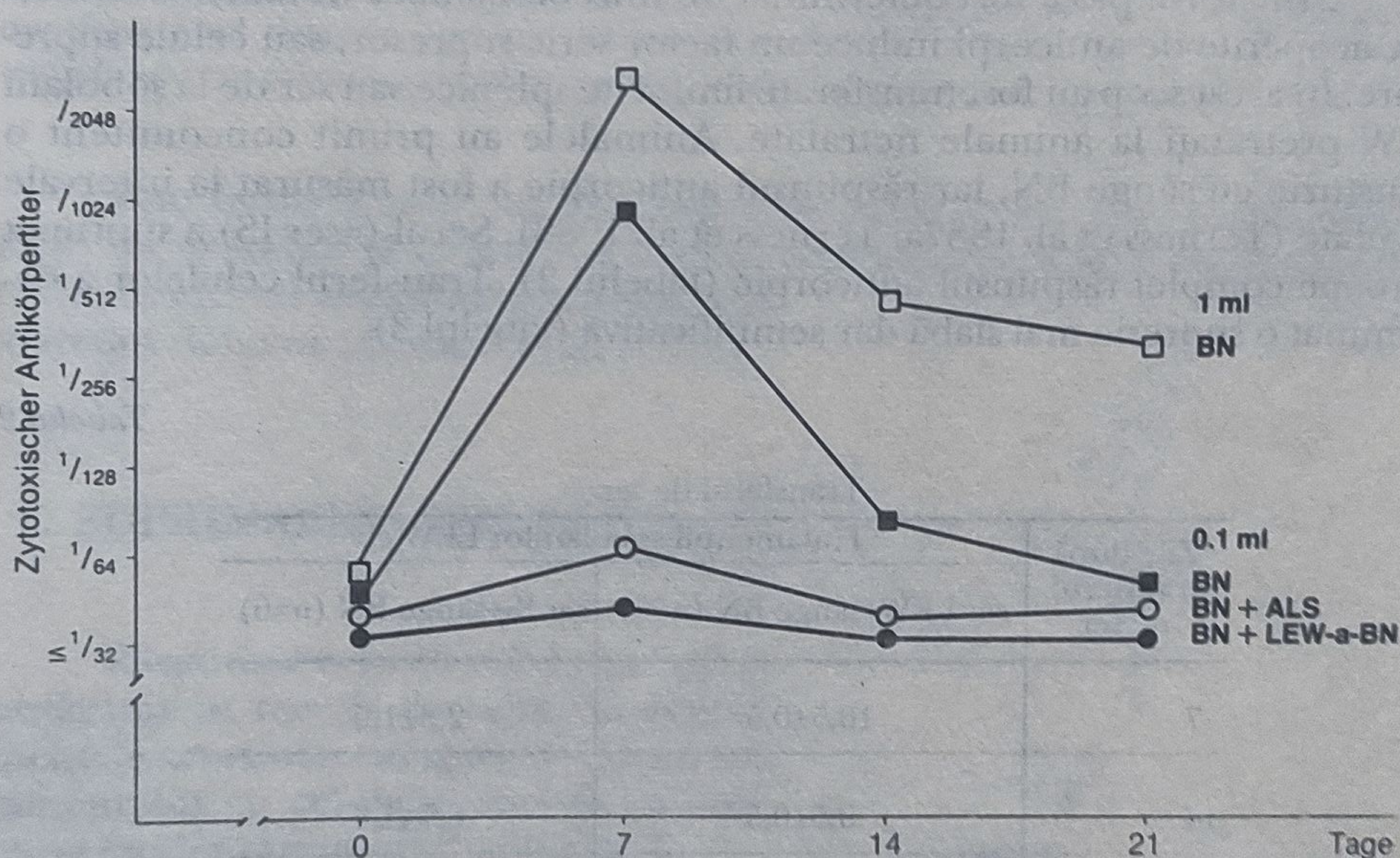


Fig. 47. O diminuare a numărului de celule sanguine acoperite cu anticorpi nu duce la o supresie mai puternică. La 8 șobolani LEW s-a injectat 1 ml sau 0,1 ml sânge BN (animale de control). Două grupe de câte 12 șobolani au primit fiecare sânge BN acoperit cu 0,02 ml ser LEW-anti-BN, respectiv cu 0,01 ml ALS. Răspunsul anticorpic citotoxic comparat cu controlul a fost semnificativ mai mic ($P<0,01$), dar nu s-a deosebit de răspunsul primitorilor cărora li s-a transferat 1 ml de celule acoperite cu anticorpi.

Ne-am pus întrebarea dacă acoperirea cu anticorpi ar putea liza deja „in vitro“ celulele, şi astfel să ducă la o distrugere a antigenelor de donator. În acest caz sistemul imun al donatorului nu ar mai fi confruntat cu antigene străine şi s-ar produce un deficit pasiv al răspunsului anticorpic (nu o supresie activă!). Pentru a examina această posibilitate am incubat limfocite BN cu ser ALS sau LEW-anti-BN (Terness şi Opelz 1985 a). Ca sursă de complement s-a utilizat ser LEW „normal“. În nici unul din teste nu au existat mai mult de 30% de celule moarte. Nici tratamentul eritrocitelor sub aceleaşi condiţii cu ser ALS sau LEW-anti-BN nu a determinat hemoliza. Aceste date susţin presupunerea că prin acoperirea cu anticorpi antigenele de donatori nu vor fi distruse, şi deci nu poate apărea un deficit pasiv al răspunsului anticorpic.

Împotriva unui simplu deficit al răspunsului anticorpic şi pentru o supresie *activă* pledează şi prelungirea supravieţuirii transplantului renal şi menţinerea supresiei după transfuzii repetate cu celule netratate de la acelaşi donator (Terness et al. 1985b).

Următorul pas a fost determinat de întrebarea dacă tratamentul cu celule acoperite de anticorpi induce un factor seric supresor, sau celule supresoare. În acest scop au fost transferate limfocite splenice sau ser de la şobolani LEW pretrataţi la animale netratate. Animalele au primit concomitent o transfuzie cu sânge BN, iar răspunsul anticorpic a fost măsurat la intervale regulate (Terness et al. 1987a; Terness et al. 1988). Serul (=ser IS) a suprimat aproape complet răspunsul anticorpic (tabelul 2). Transferul celulelor a determinat o supresie mai slabă dar semnificativă (tabelul 3).

Tabelul 2

Transferul de ser

Zile după transferul de ser	Tratamentul şobolanilor LEW cu:	
	ser LEW+sânge BN (n=6)	ser IS+sânge BN (n=6)
7	10,5±0,5	2,3±1,9
14	9,5±0,5	0,7±1,6
21	8,7±0,5	1,2±1,8

Serul LEW s-a obţinut de la şobolani LEW netrataţi, iar serul IS de la şobolani LEW trataţi (celule BN+LEW-anti-ser-BN).

Primitorii singeni au primit 1 ml sânge BN+1 ml ser IS sau LEW. Răspunsul anticorpic citotoxic anti-BN (X±SD) a fost semnificativ mai mic în grupul cu ser IS faţă de grupul cu ser LEW ($P<10^{-3}$).

Tabelul 3

Transfer celular

Zile după transfer celular	Tratamentul șobolanilor LEW cu celule:		
	0+sânge BN	(BN+anti-BN)+ sânge BN	(BN+ALS)+ sânge BN
7	10,1±0,6	7,7±0,5	8±0,5
14	8,7±1	5,8±1,1	6,1±0,6
21	6,6±1	1±0,2	4,2±2,1

Șobolanii LEW au fost tratați de 3 ori la interval de câte o săptămână cu celule BN acoperite de anticorpi (BN+ser BN-anti-LEW sau BN+ALS). După o săptămână s-au injectat $5x10^7$ celule splenice de la animalele pretratate la primitori singeni (i.v.) (de câte 3 ori la intervale de câte 3 zile). Animalele de control nu au primit celule. După o săptămână s-a transferat 1 ml sânge la primitor. Răspunsul anticorpic citotoxic anti-BN (X±SD) a fost semnificativ mai scăzut la grupul cu transfer celular față de grupul de control ($P<0,01$).

Este factorul seric un anticorp anti- idiotip? Dacă ar fi așa, efectul supresor ar trebui să se limiteze la răspunsul anti-BN. Alte cercetări însă au arătat că efectul se extinde și asupra unui al treilea donator (Terness et al. 1987b).

C. SUPRIMAREA CELULELOR T

Răspunsul celulelor T joacă un rol hotărâtor în reacția de rejet. În experimentele următoare s-a cercetat efectul tratamentului cu celule acoperite cu anticorpi asupra răspunsului celulelor T.

Pentru a determina proliferarea celulelor T am folosit un „Graft-versus- Host" Assay (fig. 48). Limfocitele LEW au fost injectate în labele unor șobolani hibrizi (LEW x BN)F_1.

Celulele au migrat în ganglionii limfatici regionali și proliferarea lor a fost stimulată de antigenele BN ale primitorului.

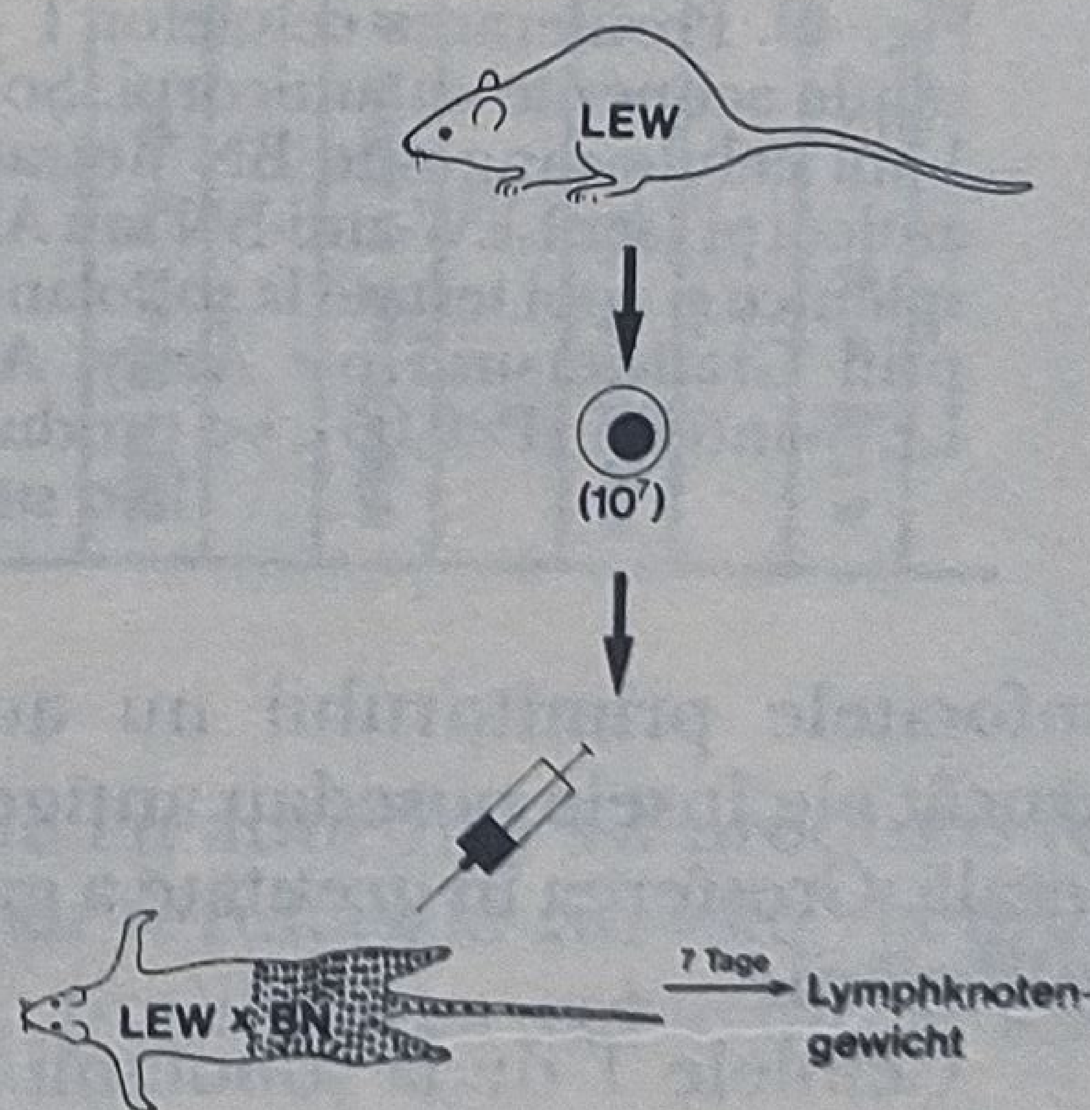


Fig. 48. Graft-versus-Host, Assay (principiu). Celule splenice LEW (10^7) au fost injectate subcutan în labele posterioare ale unui șobolan (LEW x BN)F_1. O săptămână mai târziu s-a determinat greutatea ganglionilor limfatici poplitei de la șobolanii primitori.

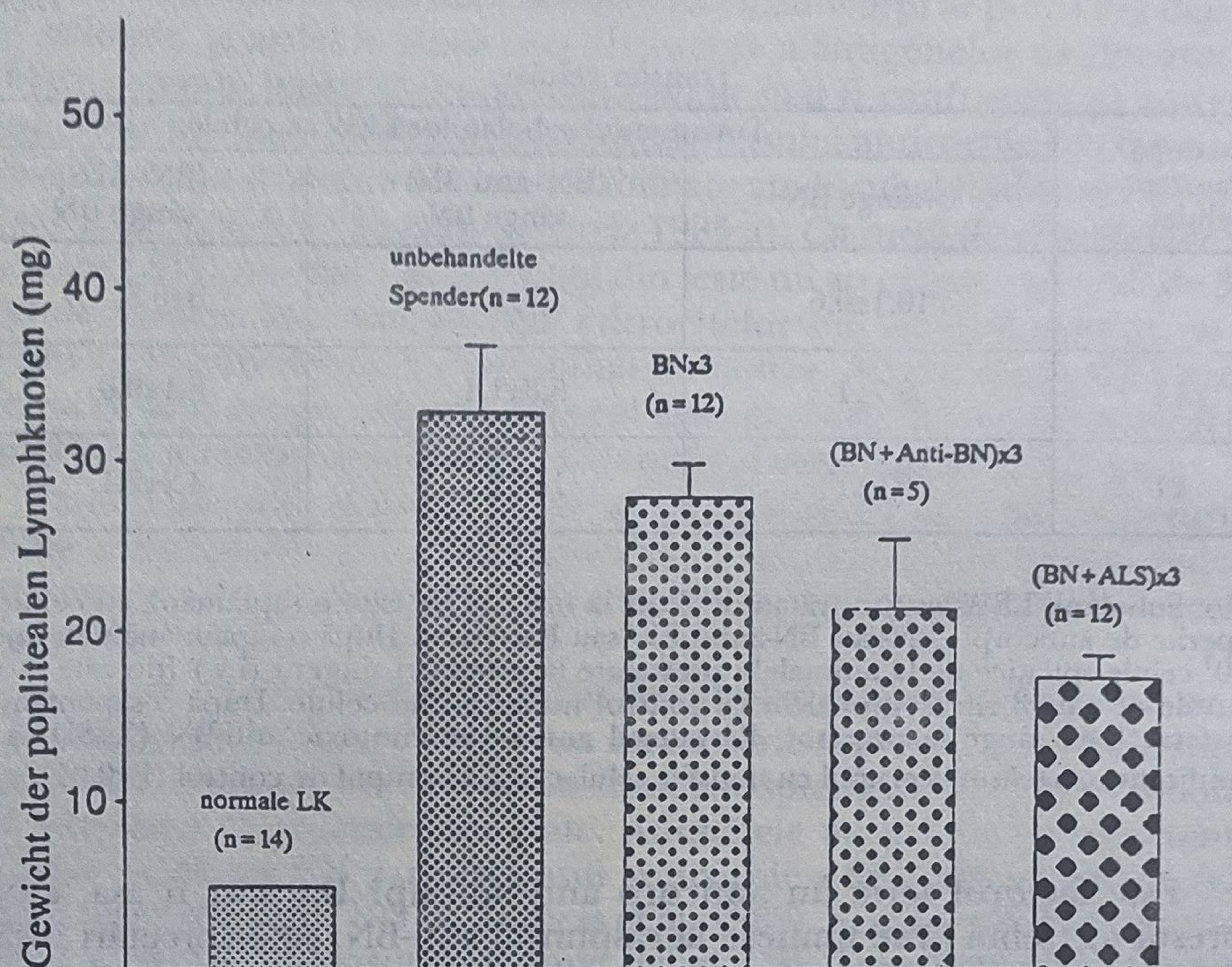


Fig. 49. Proliferarea celulelor T (Graft-versus-Host Assay) după tratamentul cu celule acoperite cu anticorpi. Șobolanii LEW au fost imunizați de 3 ori cu câte 1 ml celule sanguine BN netratate sau cu celule sanguine BN acoperite cu anticorpi (ser LEW-anti-BN sau ALS). După o săptămână au fost preparate celule splenice și apoi testate la șobolani (LEW x BN)F_1 în ceea ce privește proliferarea prin Graft-versus-Host Assay. Atât în grupa ALS ($P<10^{-4}$), cât și la grupul LEW-anti-Bn ($P<0,05$), s-a produs o supresie puternică. Transfuzia BN nu a dus la o supresie semnificativă.

Limfocitele primitorului nu au reacționat împotriva limfocitelor LEW, întrucât ele însele posedau antigene LEW. S-a produs astfel o proliferare unilaterală. Creșterea în greutate a ganglionilor limfatici corelează cu intensitatea proliferării.

Celulele T de la șobolanii LEW tratați cu celule BN acoperite cu anticorpi au avut o reactivitate scăzută față de antigenele donatorului (Terness et al. 1988). Aceasta a fost valabil atât pentru grupa LEW-anti-BN, cât și pentru grupa ALS (fig. 49).

Transfuzia cu celule de donator netratate a modificat doar puțin proliferarea celulelor T. Rezultatele „in vivo" au putut fi reproduse parțial „in vitro". A fost studiată într-o cultură limfocitară mixtă proliferarea limfocitelor de la șobolani LEW împotriva celulelor BN (fig. 50).

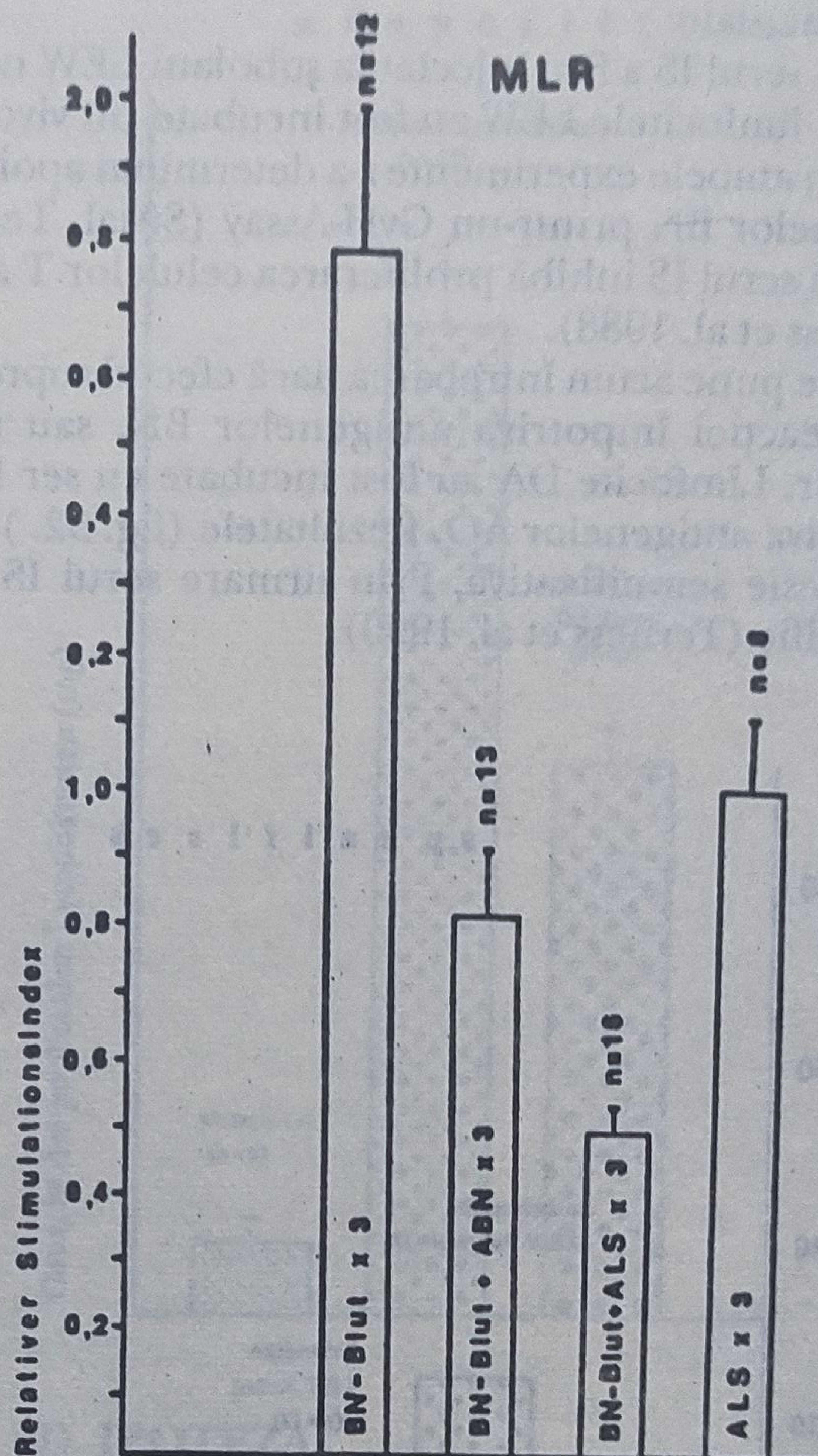


Fig. 50. Proliferarea celulelor T (reacție limfocitară mixtă) după tratamentul cu celule acoperite cu anticorpi. Șobolani LEW au fost tratați de 3 ori cu ser LEW-anti-BN sau cu celule BN acoperite cu ALS. Indivizii de control nu au primit un tratament sau o transfuzie sanguină BN. Limfocitele splenice BN tratate cu Mitomicina (limfocite stimulatoare) au fost cultivate 6 zile cu limfocite splenice LEW (limfocite responder) de la animale tratate. Rata de proliferare (indexul relativ de stimulare) (X±SEM) a fost determinată pe baza incorporării de timidină–^{3}H cpm). Tratamentul cu celule acoperite cu anticorpi a dus atât în grupa LEW-anti-BN ($P<9x10^{-4}$), cât și în grupa ALS ($P<5x10^{-5}$) la o supresie semnificativă a proliferării celulelor T in comparație cu grupa transfuzată cu sânge BN.

După tratamentul cu celule acoperite cu anticorpi s-a produs o reactivitare celulară T diminuată. În contrast cu rezultatele „in vivo" la grupul transfuzat cu sânge netratat de donator, proliferarea celulelor T a fost crescută.

Pentru diminuarea reacției celulelor T există două explicații:

– celulele T specifice au fost deletate și/sau

– celulele T specifice au fost inactivate printr-un factor supresor sau prin celule supresoare.

Experimentele prezentate în capitolul anterior au arătat ca serul acestor animale (ser IS) suprimă răspunsul imun umoral. În următoarele cercetări ar

trebui clarificat dacă serul IS inhibă și celulele T. S-au folosit două sisteme experimentale:

- serul IS a fost injectat la șobolani LEW netratați;
- limfocitele LEW au fost incubate „in vivo" cu serul IS.

În ambele experimente s-a determinat apoi reacția celulelor T împotriva antigenelor BN printr-un GvH-Assay (Süsal, Terness et al. 1987). Figura 51 arată că serul IS inhibă proliferarea celulelor T atât „in vitro", cât și „in vitro" (Terness et al. 1988).

Se pune acum întrebarea dacă efectul supresor al serului IS se adresează doar reacției împotriva antigenelor BN, sau și împotriva unui al treilea donator. Limfocite DA au fost incubate cu ser IS și s-a măsurat proliferarea împotriva antigenelor AO. Rezultatele (fig. 52.) au arătat că și aici s-a produs o supresie semnificativă. Prin urmare serul IS conține un factor supresor nespecific (Terness et al. 1990).

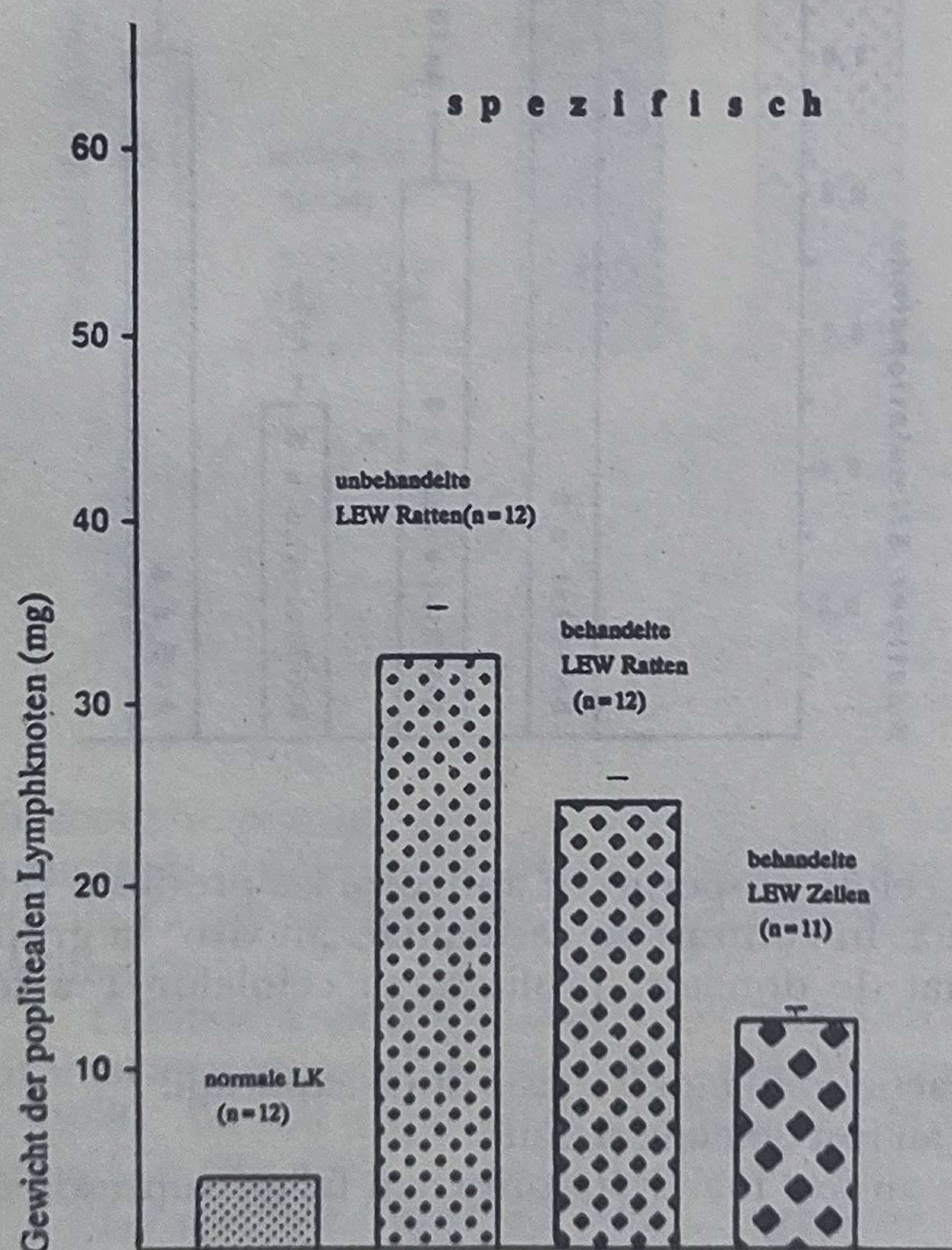


Figura 51. Inhibarea proliferării celulelor T specifice donatorului cu ser IS. Șobolanii LEW au fost injectați cu 1 ml ser IS în zilele 0,4 și 7. Animalele de control nu au primit tratament. O săptămână mai târziu s-a determinat proliferarea celulelor T ale animalelor printr-un Graft-versus-Host Assay la șobolani (LEW x BN)F_1. Într-un alt experiment au fost incubate celule splenice ($5x10^7$) de la șobolani LEW netratați, cu 0,5 ml ser IS de 2 ori câte 90 de minute la 22 °C, apoi au fost spălate și testate asupra proliferării prin Graft-versus-Host Assay. Serul IS a suprimat proliferarea celulelor T atât „in vivo" ($P<0,02$) cât și „in vitro" ($P<10^{-4}$).

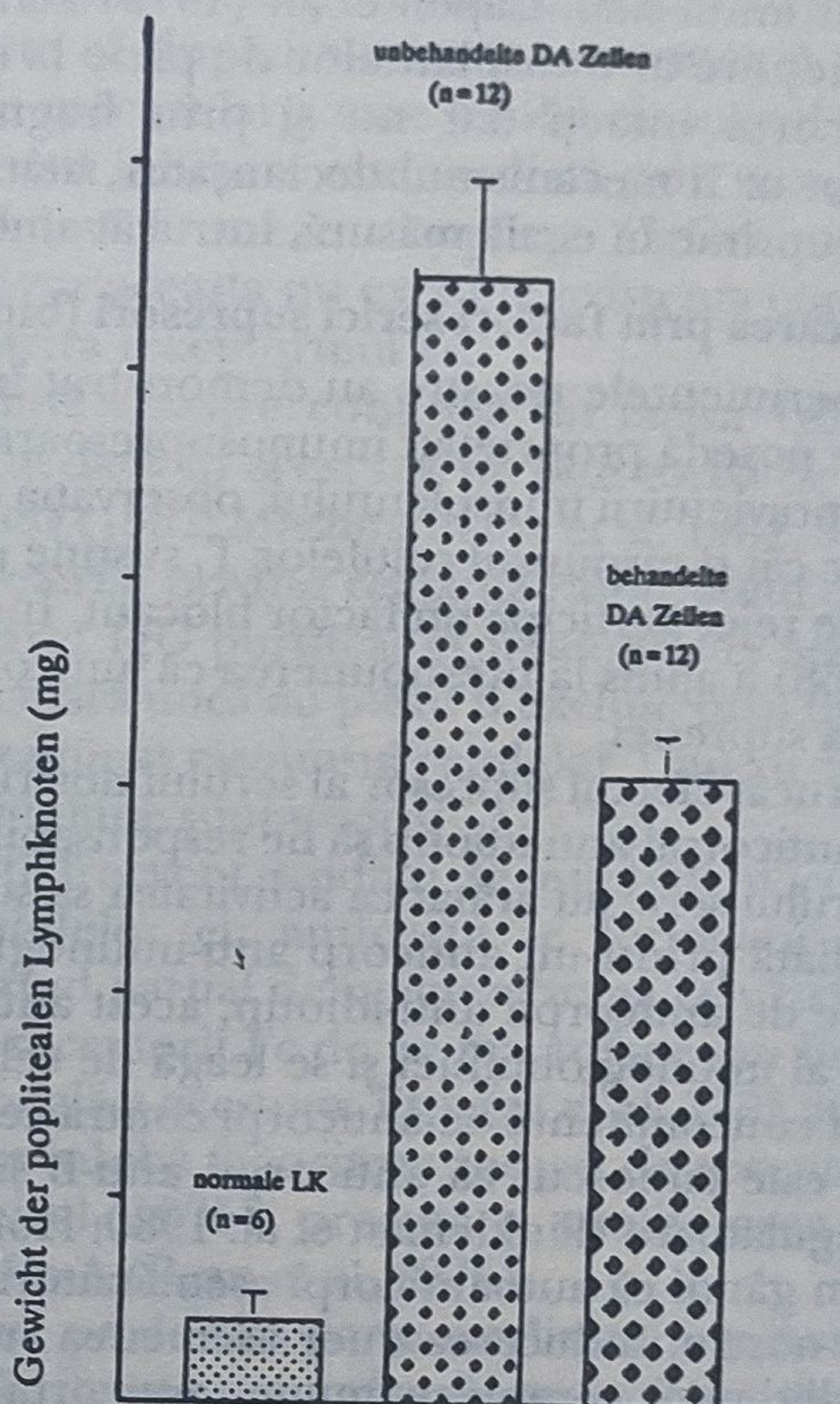


Fig 52. Inhibarea proliferării celulelor T față de un al treilea donator cu ser IS. Celulele splenice DA ($5x10^7$) au fost incubate „in vitro" cu 0,5 ml ser IS (90 minute la 22 °C) și apoi testate asupra proliferării la primitori $(DAxAO)F_1$ printr-un Graft-versus-Host Assay. Celulele DA netratate au avut o proliferare semnificativ mai mare decât limfocitele tratate cu IS ($P<7x10^{-4}$).

D. IPOTEZA

a. Factori blocanți

Blocarea prin anticorpi anti-donator. Anticorpul anti-donator folosit pentru acoperirea celulelor maschează antigenele donatorului. Astfel, limfocitul primitorului nu poate recunoaște antigenul străin (blocadă aferentă), sau antigenul străin este protejat de atacul imunologic (blocadă eferentă). Această ipoteză ar putea explica de ce primitorul nu dezvoltă un răspuns imun împotriva celulelor acoperite de anticorp, însă nu dă o explicație pentru absența reacției de rejet împotriva rinichiului transplantat (acesta nu a fost acoperit de anticorpi!). Împotriva unei blocade aferente sau eferente mai pledează faptul că imunizarea cu celule acoperite cu anticorpi induce o

supresie care persistă mai multe săptămâni. Dacă în acest timp primitorul este din nou stimulat cu antigene de la donator (Terness et al. 1985b), el dezvoltă un răspuns imun slab. Capell et al. (1979) au arătat că prelungirea timpului de supraviețuire al transplantelor de piele la șoareci poate fi indusă numai prin anticorpi intacți dar nu și prin fragmentele Fab. Dacă mascarea antigenelor ar fi mecanismul declanșator, atât IgG cât și fragmentele Fab ar trebui să suprime în egală măsură, întrucât ambele acoperă antigenele.

Blocarea prin factori serici supresori (blocada centrală).

Experimentele noastre au demonstrat într-adevăr că serul animalelor imunizate posedă proprietăți imunosupresoare. Deși nu am examinat efectul asupra supraviețuirii transplantului, observația că serul suprimă atât răspunsul anticorpic cât și răspunsul celulelor T, susține presupunerea că la suprimarea reacției de rejet participă un factor blocant. Într-un model asemănător Stuart et al. (1968) a ajuns la presupunerea că anticorpii anti-idiotip joacă un rol în inducerea supresiei.

Întrucât efectul supresor al serului nostru nu a fost specific, pare improbabil ca anticorpii anti-idiotip să fie responsabili pentru acest efect. Examinări ale factorului seric au arătat ca activitatea sa supresoare ține de fracția IgG și este mediată printr-un anticorp anti-imunoglobulină cu spectru larg. Spre deosebire de anticorpii anti-idiotip, acest anticorp recunoaște un domeniu constant al imunoglobulinei și se leagă de celulele B autologe. Este posibilă formarea concomitentă de anticorpi contra celulelor T (Terness et al. 1990). Întrucât este cunoscut că anticorpii anti-B și anti-T pot exercita o funcție imunoregulatoare (Finkleman et al. 1980; Hollander 1982; Nakayama 1982), ne putem gândi că autoanticorpi asemănători au determinat o supresie și în modelul nostru. Inducerea unor asemenea anticorpi s-ar putea petrece prin intermediul unor complexe imune (anticorpi anti-celule donator + celule de donator). Complexele imune duc în anumite condiții la o activare policlonală a celulelor B (Morgan și Weigle 1983). În acest mod pot fi activate și acele clone care formează anticorpi anti-celule B și T.

Dintre factorii serici supresori produși în cadrul unei alloimunizări și care influențează durata supraviețuirii transplantului, fac parte și factorii blocanți ai receptorului Fc-γ (McLeod et al. 1982; Petranyi et al. 1988; Sandilands et al. 1990). Se presupune ca în acest caz este vorba de anticorpi IgG anti-limfocite (McLeod et al. 1982), de IgG liganzi IgG (IBF)* (Sandilands et al. 1990) sau de complexe antigen-anticorp +IBF (Fidman et al. 1987).

În diverse studii au fost descriși factori blocanți ai receptorului Fc, factori cu greutate moleculară diferită și cu efect asupra răspunsului imun. Astfel de exemplu, Sandilands et al. (1990), au găsit o macromoleculă (19S), care suprimă celulele B dar nu și celulele T, pe când alte grupuri (McLeod et

* IBF înseamnă imunoglobulin binding factor.

al. 1982), raportează despre o moleculă 7S și despre inhibarea răspunsului celulelor T (Petranyi et al. 1988). Toate lucrările concordă asupra proprietății de inhibare a receptorului Fc-γ a acestor factori. Acești factori nu pot fi excluși din modelul nostru. Sigur este că după imunizare se formează un autoanticorp anti-imunoglobulină cu spectru larg, care inhibă răspunsul celulelor B (Terness et al. 1992 a, b). Această inhibare este mediată prin receptorul Fc-γ. Este posibil ca autoanticorpul să formeze complexe (IgG+anti-IgG) care blochează receptorul Fc. Desigur aceasta nu exclude existența concomitentă a unui anticorp blocant împotriva receptorului Fc.

Întrucât serul din studiile noastre conținea un factor inhibitor nespecific a mai rămas în discuție dacă în acest caz nu este vorba de o citokină supresoare (Fleishner et al. 1981+1982; Miyama-Inaba et al. 1982; Pierce et al. 1981; Pisko et al. 1986). Cercetările privind reglarea răspunsului celulelor B au fost efectuate cu un preparat IgG purificat cromatografic. Substanțe ca limfokinele cu greutate moleculară mică au putut fi excluse prin filtrare prin gel. Condițiile în care a fost examinat răspunsul celulelor T nu au permis însă excluderea participării unor citokine supresoare.

Printre factorii blocanți frecvent studiați se numără și complexele imune. După acoperirea celulelor cu anticorpi se formează complexe antigen-anticorp care se desprind parțial de pe membrana celulară. Legarea unor asemenea complexe de receptorii Fc de pe macrofage sau limfocite ar putea duce la blocarea funcțională a acestora. Esparza et al. 1983 au arătat că complexele imune imobilizate inhibă fagocitoza indusă de receptorul Fc al macrofagelor (Rabinovitch et al. 1975), precum și proliferarea celulelor splenice indusă de Concanavalin-A (Ryan et al. 1975).

Complexele imune induc pe de altă parte mediatori imunosupresuri. După contactul cu complexele imune macrofagele secretă prostaglandine, leucotriene și ioni de superoxid (Rouzer et al. 1982; Kasai et al. 1982). În plus, complexele imune duc la activarea complementului. Din acest proces rezultă fracțiuni care, în anumite condiții, inhibă atât celulele T (Meuth et al. 1983), cât și celulele B (Tsokos et al. 1984; Melchers et al. 1985).

b. Celule supresoare

Transplantul de limfocite splenice de la animale tratate la primitori singeni a suprimat răspunsul imun. Această constatare permite concluzia existenței de celule supresoare. O observație ce pledează pentru existența unor celule supresoare longevive este și persistența relativ lungă (peste 6 săptămâni) a supresiei, după tratament cu celule acoperite cu anticorpi (Terness et al. 1985b). Într-un studiu asemănător la șobolan Leonard et al. (1985), au demonstrat inducerea de celule supresoare. Efectul supresor a putut fi reprodus atât cu limfocite splenice nedisparate, cât și cu celule T_S purificate

(Lenhard et al. 1987). Stuart et al. (1976) au prelungit supraviețuirea unui rinichi allogen prin transfer de celule splenice de la animale imunosuprimate. Supresia donatorilor de limfocite a fost indusă asemănător modelului nostru, prin tratament cu anticorpi anti-donator.

c. Deleția clonală

Cu toate că este stabilit că în modelul nostru sunt induse atât celule supresoare cât și factori serici supresori, acest lucru nu exclude și participarea altor mecanisme. În experimente asemănătoare pe animale s-a arătat că pot să apară concomitent o deleție clonală, celule supresoare sau factori supresori (Eto et al. 1990).

O explicație pentru modul în care se poate induce o deleție clonală în modelul nostru este oferită de fenomenul „Antigen-Reactive´ Cell Opsonization" (opsonizare celulară reactivă la antigen) descrisă de Hutchinson și Zola 1980). Atât în modele experimentale singene, precum și în cele allogene sau xenogene s-a putut demonstra opsonizarea limfocitelor anti-donator. În toate experimentele primitorul a obținut simultan cu celulele de donator și un anticorp anti-donator. Macrofagele primitorului au fost activate de către celulele de donator acoperite de anticorpi și nu au distrus numai celulele de donator ci și propriile limfocite îndreptate împotriva donatorului (fig. 53). Urmarea a fost o deleție clonară.

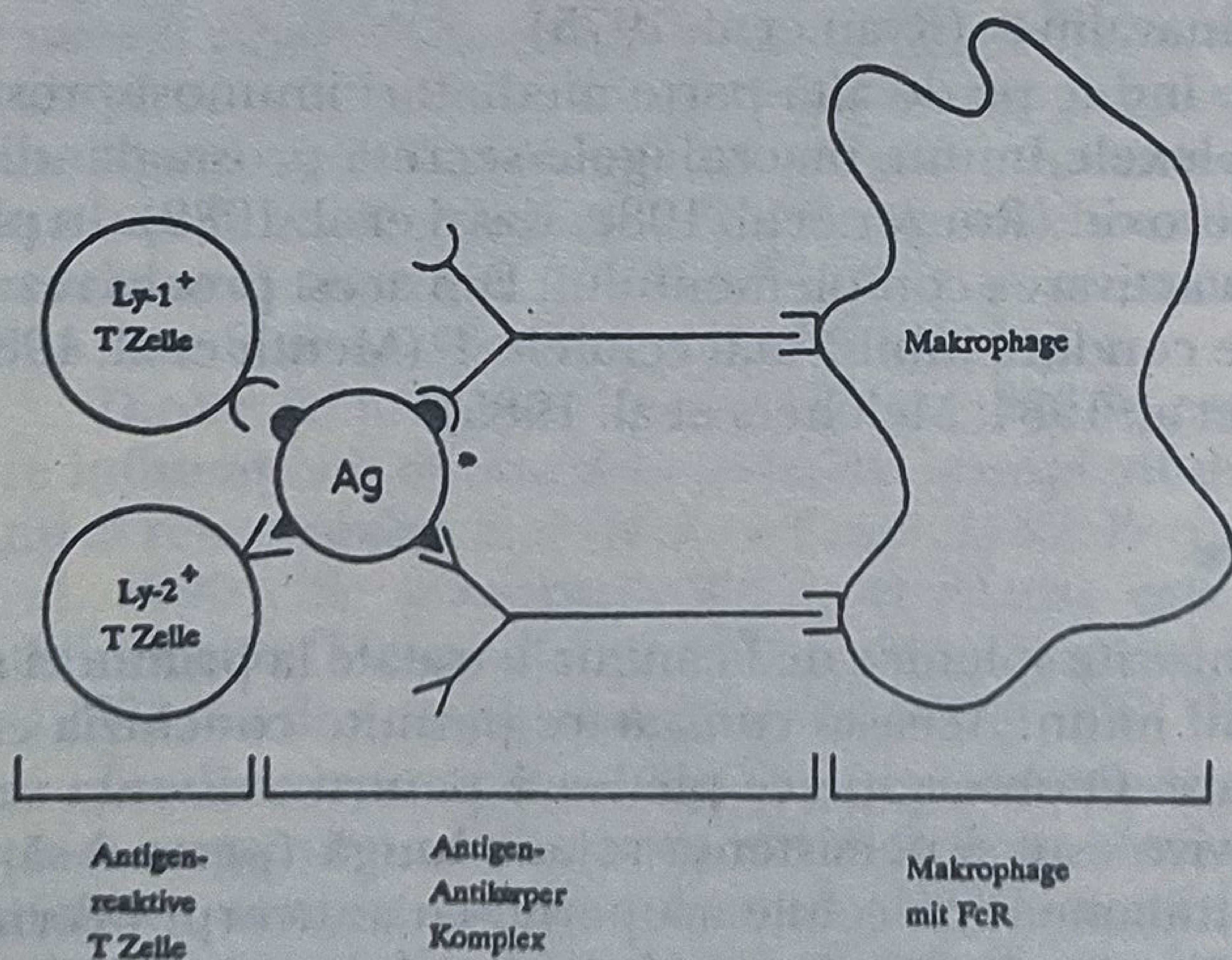


Fig. 53. Antigen Reactive Cell Opsonization (ARCO). Limfocitele de la primitor (celule antigen reactive se leagă de antigenele libere ale celulelor donatoare neocupate de anticorpi). Regiunea Fc a anticorpilor care ocupă celulele donatoare se leagă de receptorul Fc de pe macrofagele primitorului și le activează. Celulele donatoare și limfocitele antidonator legate de ele vor fi eliminate prin fagocitoză.

d. Adaptarea transplantului (grefei) (Graft Adaptation)

Dacă un organ supraviețuiește mai mult timp într-un primitor, apar modificări ale imunogenității acestuia. Batchelor a plantat un rinichi transplantat de la un șobolan tolerant la un primitor singen, netratat (Batchelor et al. 1979). Primitorul nu a dezvoltat un răspuns imun împotriva rinichiului străin și transplantul a supraviețuit mult timp. În organismul primului primitor rinichiul transplantat și-a pierdut propriile leucocite. Astfel, al doilea primitor a primit un organ străin lipsit de leucocite. Întrucât leucocitele sunt puternic imunogene, Batchelor a presupus că prelungirea supraviețuirii transplantului se datorează lipsei acestor celule. Desigur pot să apară și modificări directe ale structurii imunogene la un transplant cu supraviețuire lungă.

În modelul nostru, adaptarea ar putea juca un rol în supraviețuirea îndelungată a transplantului, dar ea nu explică inducerea unei supresii.

E. UN MODEL PENTRU PRELUNGIREA SUPRAVIEȚUIRII TRANSPLANTULUI ȘI... SĂGEATA OTRĂVITĂ A BRAHMANULUI

În ultimele decenii studiile mai multor autori au dovedit cât de multilaterale (polifațetate) sunt mecanismele imunosupresiei în diferite modele de toleranță. Și în modelul nostru participă mai multe mecanisme. Există dovezi clare pentru existența unui factor seric supresor și pentru participarea celulelor supresoare. În plus mai pot juca un rol și alte mecanisme cum ar fi deleția clonală sau inducerea de citokine supresoare.

Ne-am propus să dezvoltăm o metodă relevantă clinic pentru prelungirea supraviețuirii transplantului. Într-un model pe șobolan am reușit ca printr-o intervenție simplă să prelungim semnificativ supraviețuirea unui transplant renal puternic incompatibil. Metoda noastră se deosebește de alte concepte asemănătoare (Stuart et al. 1968; French și Batchelor 1969), prin aplicatibilitatea ei clinică. Dacă prin acest tratament se obține o prelungire a supraviețuirii transplantului și se poate reduce doza de medicamente imunosupresoare, atunci acest model este un pas de mare importanță practică, chiar dacă nu aduce un aport semnificativ la explicarea mecanismelor toleranței. Pentru pacient este mai importantă o prelungire a supraviețuirii transplantului printr-un mecanism necunoscut decât un mecanism de supresie cunoscut, dar fără aplicabilitate terapeutică.

Acest punct de vedere asupra lucrurilor poate fi exemplificat de următoarea povestire din cultura orientală: Într-o zi un brahman a fost nimerit de o săgeată otrăvită și foarte curând a fost confruntat cu moartea. Rudele au

adus de îndată un medic. Acesta nu a vrut să scoată săgeata și să aplice leacuri până nu i s-a răspuns la trei întrebări *vitale:*

Întâi, cel care a țintit spre rănit a fost un alb sau un negru? În al doilea rând, a fost mare sau mic? În al treilea rând, a fost un brahman sau un om fără castă? Dar, în timp ce erau elucidate cauzele atacului, rănitul a murit din cauza săgeții otrăvite.

Învățătura acestei povestiri ar trebui să ne ajute să trecem peste nemulțumirea cauzată de faptul că a fost stabilit un model pentru prelungirea supraviețuirii transplantului, fără însă a fi fost clarificată complet cauzele acestuia.

TOLERANZ GEGENÜBER FREMDANTIGENEN: DER WEG VOM TRAUM ZUR WIRKLICHKEIT

Dr. med. habil. HABIL PETER TERNESS M.D.

Institut für Immunologie
Universität Heidelberg
Heidelberg
Deutschland

1. MIT DER NASE FING ES AN...

In einem Handbuch der Operationslehre des XVIII. Jahrhunderts wird folgender Fall geschildert: „Die eifersüchtige Frau eines Notars aus Paris ging eines Tages in die Metzgerei, wo die verdächtigte Geliebte ihres Mannes arbeitete. Nachdem sie dieser Verschiedenes vorgeworfen hatte, nahm sie von der Theke ein großes Messer und schnitt ihrer Rivalin die Nase ab. Die abgeschnittene Nase wurde sofort wieder angenäht und wuchs ohne Schwierigkeiten an."

Berichte über Organtransplantationen finden wir allerdings schon viel früher in den Mythen und Legenden vieler Völker. Von einer systematischen Entwicklung der Operationstechniken für Organverpflanzungen jedoch kann man erst ab Anfang dieses Jahrhunderts sprechen.

Der erste erfolgreiche Versuch einer Nierentransplantation am Hund wurde 1902 von E. Ullmann durchgeführt, und in der Wiener Medizinischen Wochenschrift veröffentlicht (Abb. 39). In den darauffolgenden Jahrzehnten wurde die Operationstechnik der Nierentransplantation, die mit einigen Veränderungen bis heute angewandt wird, ausgearbeitet *(Wagner 1981)*. Der große Durchbruch jedoch gelang erst in den fünfziger Jahren. Einen Tag vor Weihnachten des Jahres 1954 hat Joseph Murray (Nobelpreisträger 1990) die erste erfolgreiche Nierentransplantation an eineiigen Zwillingen durchgeführt.

Spätestens ab diesem Zeitpunkt mußte der medizinischen Welt klar geworden sein, daß die Abstoßung einer fremden Niere kein technisch-operatives, sondern ein immunologisches Problem ist.

Die immunologische Transplantationsforschung geht bis ins XVIII. Jahrhundert zurück. Aus jener Zeit stammen die ersten Versuche der Vereinigung von Süßwasser-Polypen oder -Würmern *(Wagner 1981)*. Obwohl die Vermutung nahe lag, daß es eine äußerst starke Individualitätsbarriere gibt,

Wiener klinische Wochenschrift

Die „Wiener klinische Wochenschrift" erscheint jeden Donnerstag im Umfange von mindestens zwei Bogen Gross-quart.
Zuschriften für die Redaction sind zu richten an Dr. Alexander Fraenkel, IX/3, Maximilianplatz, Güntergasse 1. Bestellungen und Geldsendungen an die Verlagshandlung.

Redaction: Telephon Nr. 16.282.

Abonnementspreis jährlich [illegible] K = [illegible] Mark. Abonnements- und Insertions-Aufträge für das In- und Ausland werden von allen Buchhandlungen und Postämtern, sowie auch von der Verlagshandlung übernommen. — Abonnements, deren Abbestellung nicht erfolgt ist, gelten als erneuert. — Inserate werden mit [illegible] h = [illegible] Pf. pro zweigespaltene Nonpareillezeile berechnet. Grössere Aufträge nach Uebereinkommen.

Verlagshandlung: Telephon Nr.

Organ der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien.

Redigirt von Dr. Alexander Fraenkel.

Verlag von Wilhelm Braumüller, k. u. k. Hof- und Universitäts-Buchhändler, VIII/1, Wickenburggasse 13.

XV. Jahrgang. **Wien, 13. März 1902.** **Nr. 11.**

INHALT:

I. Originalartikel: 1. Experimentelle Nierentransplantation. Vorläufige Mittheilung. Von Dr. Emerich Ullmann, Privatdocenten für Chirurgie in Wien.
2. Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. Rudolfstiftung in Wien (Vorstand: Dr. E. Freund). Ueber den Abbau der Eiweisskörper in der Leber. Von Dr. Töpfer.
3. Aus der chirurgischen Abtheilung der Allgemeinen Poliklinik und des St. Anna-Kinderspitales des Prof. Hochenegg und aus der chirurgischen Abtheilung des Leopoldstädter Kinderspitales. Zur Therapie des epityphlitischen Douglasabscesses. Von Dr. Fritz Pendl, Assistenten der obgenannten Abtheilung an der Poliklinik und Chefchirurg des Leopoldstädter Kinderspitales.
4. Uterus bicornis mit Zwillingsschwangerschaft und Placenta incarcerata. Mittheilung aus der Landpraxis. Von Dr. Otto Rudl, Sarnthein.
II. Nekrolog: M. Kaposi, geboren am 23. October 1837, gestorben am 6. März 1902. Von Neumann.
III. Referate: Ueber die Entstehung der angeborenen Hüftverrenkung. Von F. v. Friedlaender. Die anormalen Kinder und ihre erziehliche Behandlung in Haus und Schule. Von Prof. Dr. med. Jean Demoor. Die Impfung und ihre Technik. Von Hofrath Dr. med. Konrad Blase. Die Krankheiten des Mundes und der Zähne im Kindesalter. Von Dr. Joh. Hugo Spiegelberg. Die Temperaturverhältnisse bei den Neugeborenen in ihrer ersten Lebenswoche. Von Johann Lachs. Ref. Friedjung.
IV. Aus verschiedenen Zeitschriften.
V. Vermischte Nachrichten.
VI. Verhandlungen ärztlicher Gesellschaften und Congressberichte.

Experimentelle Nierentransplantation.

Vorläufige Mittheilung.[1]

Von Dr. Emerich Ullmann, Privatdocenten für Chirurgie in Wien.

Meine Herren! Gelegentlich meiner Versuche über Darmtransplantation, über welche ich voriges Jahr dieser Gesellschaft zu berichten die Ehre hatte, dachte ich daran, ob es nicht möglich wäre, auch die Niere zu transplantiren. Die ersten diesbezüglichen Versuche misslangen aus dem Grunde, weil ich als Versuchsthier das Schwein wählte, dessen Venen ausserordentlich zart und zerreisslich sind. Erst als ich die Transplantationen an Hunden ausgeführt habe, gelangen sie vollständig. Ich will vorweg betonen, dass es sich bei meinen Versuchen nicht etwa um Transplantation von Nierenpartikelchen handelt, wie in den Versuchen von Lubarsch und Allessandri. Diese haben kleine Stückchen von Nierengewebe in die Milz und in Lymphdrüsen transplantirt um die Veränderungen zu studiren, welche das Nierengewebe, namentlich die Harncanälchen, daselbst erleiden, Veränderungen, welche zumeist in einer Nekrobiose bestanden haben. In meinen Versuchen handelt es sich aber um Transplantationen der Niere in toto, um Organtransplantationen, wie solche an anderen Organen, an der Schilddrüse, am Hoden und an den Ovarien bereits mehrfach ausgeführt wurden. Bei einem so massigen Organ, wie es die Niere ist, war es von vorneherein nicht wahrscheinlich, dass die Experimente durchführbar seien; nichtsdestoweniger gelangen sie, da nicht nur die Lebensfähigkeit der transplantirten Niere, sondern auch ihre physiologische Function erhalten blieb.

Die Ausführung der Transplantation geschah auf folgende Weise: Am Orte, wohin die Niere transplantirt werden sollte — und als solchen wählte ich erst die Inguinalgegend, später auf Herrn Hofrath Exner's Empfehlung den Hals, weil an der letzteren Stelle die Thiere sich nicht lecken können und eine Verunreinigung am ehesten vermieden werden kann — wird durch einen Schnitt Arterie und Vene, am Halse also Carotis und Vena jugularis auf eine weite Strecke hin freigelegt; dieselben werden peripheriewärts ligirt und centralwärts mit je einem armirten Schieber — armirt, damit keine Verletzung der Gefässe entsteht — versehen. Nun werden die Gefässe durchschnitten und sowohl Carotis als Jugularis zur Gefässvereinigung, wie sie von Payr angegeben wurde, vorbereitet. Die Gefässe werden durch kleine Magnesiumröhren, welche ich mir auf die Weise herstellen liess, dass die eine Hälfte der Röhren glatt ist, die andere Hälfte zwei Nuthen trägt, durchgezogen, umgekrempelt und, während die centralwärts gelegene nuthlose Hälfte mit einer Pincette gehalten wird, das Gefäss mittelst einer Ligatur an die centralwärts liegende Nuth gebunden. Jetzt führte ich die Exstirpation der Niere aus, indem der Ureter eine Strecke weit lospräparirt und durchschnitten wurde und die Arteria und Vena renalis möglichst nahe an den grossen Gefässen einfach ligirt und durchschnitten wurden. Nun ist die Niere in eine in warme, physiologische Kochsalzlösung getauchte, sterilisirte Compresse gelegt und am Halse die Vena renalis über die Jugularis gezogen und mit einer Ligatur an der peripheriewärts liegenden Nuth befestigt worden, ebenso wurde die Arteria renalis über die Carotis gezogen und an der peripheriewärts liegenden Nuth befestigt. Dann wurden die Schieber zuerst von der Vene, dann von der Arterie entfernt. Sofort strömte Blut durch die Niere und konnten wir uns überzeugen, dass die physiologische Thätigkeit fortbestand, indem bald Urin durch den Ureter abging. Ich will Sie, meine Herren, mit den Angaben, auf welche Weise eine Regulirung des Zuströmens und

[1] Gehalten in der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien am 7. März 1902.

Abb. 39. Der erste erfolgreiche Versuch einer Nierentransplantation im Hund.

die für die Abstoßung verantwortlich ist, wurden im Laufe der Zeit immer wieder Experimente veröffentlicht, die zur irrtümlichen Annahme führten, daß diese Barriere ohne immunologische Eingriffe überwunden werden kann. Vor 120 Jahren erschien in der Zeitschrift „Nature“ ein Bericht über eine erfolgreiche Zahnübertragung zwischen Tieren verschiedener Spezies: „M.P. Bert berichtet in seiner 'Thesis on animal grafting' über die Versuche von Herrn M.J.M. Philipeaux:

Am 13. Januar 1853 hat Herr Philipeaux nach einer Inzision am Kopf eines jungen Hahnes den Schneidezahn eines Meerschweinchens, das einige Stunden vorher zur Welt kam, eingeführt. Der vollständige, mit seiner Wurzel vorhandene Zahn wurde so plaziert, daß der Apex an der Basis der Wunde lag. Er war insgesamt 8 mm lang und 2 mm dick. Der Hahn wurde 10 Monate nach der Operation getötet. Der Zahn, der zum Zeitpunkt der Operation völlig bedeckt war, ragte 5 mm über die Haut hinaus. Philipeaux sezierte den Zahn über seine gesamte Länge und fand, daß er nicht weniger als 13 mm maß; folglich war er 5 mm gewachsen. Das Besondere an diesem Experiment, das gewissermaßen dem Experiment von Hunter und Sir A.. Cooper gleicht, in dem die Sporen eines Hahnes in dessen Kamm transplantiert wurden, besteht darin, daß hier eine Transplantation in einem Tier, mit dem Organ einer völlig anderen Spezies, vorgenommen wurde.“ *(Nature, 28. Juli, 1870).*

Das erste Experiment dieser Art wurde tatsächlich von John Hunter *(1728–1793)*, dem Vater der experimentellen Chirurgie durchgeführt. Hunter hat nicht nur, wie in dem Artikel aus „Nature“ behauptet, die Sporen eines Hahnes sondern auch einen menschlichen Zahn transplantiert. Die Dokumentation dieser Experimente liegt bis zum heutigen Tag im „Hunterian Museum“ des „Royal College of Surgeons of England“ vor.

Daß manche Organe, wie zum Beispiel Zähne, schwach immunogen sind und daher keine Abstoßung bewirken, wurde allerdings erst viel später erkannt.

In seiner Rede bei der Verleihung des Nobelpreises hat Karl Landsteiner, der Entdecker der Blutgruppen, bereits 1930 vorausgesagt, daß außer dem ABO System auch andere Systeme beim Angehen oder bei der Abstoßung von transplantierten Geweben beteiligt sind. Im Laufe der Zeit häuften sich die Argumente, die darauf hinwiesen, daß die Abstoßung von fremden Organen eine Reaktion des Immunsystems auf gewisse Antigene des Spenders ist.

Folgende Versuche beweisen den immunologischen Ursprung der Abstoßungsreaktion: Wird Haut von einer Spendermaus auf eine histoinkompatible Empfängermaus übertragen, kommt es in den meisten Fällen innerhalb von 10 Tagen zu einer Abstoßung. Ein zweites Transplantat vom gleichen Spender wird innerhalb von nur 5–6 Tagen abgestoßen. Eine

beschleunigte Abstoßung („second set rejection") findet nur dann statt, wenn vom selben Spender bereits früher einmal Gewebe empfangen wurde; gleichzeitig von anderen Spendern übertragenes Gewebe wird nicht beschleunigt abgestoßen. Die Fähigkeit zur Abstoßung konnte durch Lymphozyten von einem immunisierten Tier in ein unbehandeltes Tier übertragen werden.

Diese Experimente veranschaulichen die zwei Hauptmerkmale der Immunität: das Gedächtnis und die Spezifität und zeigen, daß die Abstoßung von Lymphozyten vermittelt wird.

2. DER DREIßIGJÄHRIGE KRIEG

Es sind 30 Jahre vergangen, seit Medawar für die Induktion der immunologischen Toleranz den Nobelpreis bekam. In eleganten Versuchen zeigte er, daß unter gewissen experimentellen Bedingungen das Immunsystem eines Tieres Fremdgewebe als körpereigen akzeptiert *(Billingham, Brent, Medawar 1953)*. Diese Experimente gingen von der Beobachtung aus, daß zweieiige Kälberzwillinge eine gegenseitige Toleranz auf die Gewebsantigene des anderen entwickeln, wenn während der Embryonalzeit über eine gemeinsame Plazenta ein Blutaustausch stattgefunden hat. Erwartungsgemäß hätten diese nichtidentischen Tiere Gewebstransplantate des anderen Zwillings abstoßen müssen; weil sie aber embryonales Blut ausgetauscht hatten, erwiesen sie sich hinsichtlich ihres hämatopoetischen Gewebes als stabile Chimären, und konnten gegenseitig Hauttransplantate austauschen. Medawar reproduzierte dieses Phänomen, indem er neugeborene Mäuse mit Milzzellen erwachsener Mäuse eines anderen Stammes behandelte. Als erwachsene Tiere waren die Empfängermäuse gegen Hauttransplantate des Spenderstammes tolerant, stießen jedoch Transplantate von nichtverwandten Spendern ab.

Mit diesen historischen Experimenten ist die Immunologie ihrem alten Traum, Menschen fremde Organe zu transplantieren, ein Stück näher gekommen. Sehr bald versuchten Immunologen, auch in erwachsenen Tieren Toleranz zu induzieren. Dafür wurden physikalische, pharmakologische oder biologische Immunmodulatoren, wie Zytostatika, lethale Ganzkörperbestrahlung, totale Lymphknotenbestrahlung, Antilymphozyten Globulin oder eine Kombination dieser Methoden angewandt. Die Vielfalt der Protokolle beweist bereits, wie schwierig es ist, im erwachsenen Tier Toleranz zu

induzieren. Heroische suppressive Maßnahmen mußten oft eingesetzt werden, um das Immunsystem eines erwachsenen Individuums dazu bringen, allogene Zellen als körpereigen anzunehmen. Bei all den Fortschritten, die auf diesem Gebiet gemacht wurden, gibt es dafür bis heute keine ideale Methode. Darüber hinaus gab es in den letzten Jahrzehnten grundsätzliche Kontroversen über den Mechanismus der Toleranzinduktion.

Vor fast 400 Jahren brach der Dreißigjährige Krieg aus. Dieser Krieg wurde auf den Barrikaden der *religiösen Intoleranz* geführt. Seit über 30 Jahren wird ein Krieg auf den Barrikaden der *immunologischen Toleranz* geführt. Auf der einen Seite stehen die Verfechter der klonalen Deletion, auf der anderen Seite die Verfechter der aktiven Suppression.

Zeichnet sich nun eine Kompromißlösung der beiden Standpunkte ab? Sind wir dem Westfälischen Frieden nähergekommen?

3. FAKTOREN, DIE DIE TOLERANZINDUKTION BEEINFLUSSEN

A. ALTER

Wie bereits erwähnt, wiesen die Arbeiten von Medawar *(Billingham, Brent, Medawar 1953)* darauf hin, daß Toleranz viel leichter in neugeborenen als in erwachsenen Tieren erreicht werden kann. Der Befund wurde etwas später von Hasek *(Hasek et al. 1959)* und dann von vielen anderen Experimentatoren bestätigt. Die ontogenetischen Unterschiede spiegeln die unterschiedliche Empfindlichkeit von unreifen und reifen Lymphozyten auf tolerogene Signale wider. Besonders deutlich dargestellt wurde dieses Phänomen in den Experimenten von Cooper et al. *(1980)*, in denen versucht wurde, mit Anti-IgM Antikörpern unreife bzw. reife B-Zellen tolerant zu machen. Um die Immunantwort von reifen B-Zellen zu unterdrücken, war eine 300mal höhere Antikörpermenge erforderlich. Eine ähnliche Beobachtung machten Nossal und Pike *(1978):* neonatale B-Zellen konnten mit einer 1000mal geringeren Antigenmenge tolerant gemacht werden als reife B-Zellen. Die Ursachen dieses Phänomens werden später in diesem Kapitel analysiert.

B. GENETISCHE FAKTOREN

Die Empfindlichkeit auf Toleranzinduktion ist von Mäusestamm zu Mäusestamm verschieden *(Matzinger 1987)*. So kann zum Beispiel bei dem autoimmunen Mäusestamm (NZBxNZW)F1 nur äußerst schwer eine Toleranz erreicht werden. Stämme, die Lupus erythematodes-ähnliche Symptome entwickeln, sind gegenüber der Toleranzinduktion mit Hapten-substituiertem oder deaggregiertem Immunglobulin resistent. Die genetische Grundlage dieser Beobachtung ist nicht klar.

C. ZUSAMMENSETZUNG DES ANTIGENS

Die physikalischen Eigenschaften des Antigens bestimmen oft seine tolerogene Wirkung. Stoffe, die metabolisch langsam abgebaut werden, sind generell gute Toleranzinduktoren. So führen zum Beispiel hohe Dosen von Polysacchariden oder D-Aminosäuren-Polymeren, die im Körper lange Zeit überleben, zu einer langfristigen Toleranz. Eine besondere Bedeutung zur Klärung dieses Phänomens kommt den Experimenten von Dresser *(1962)* zu: Wird aus einem Antigengemisch die komplexierte und makromolekulare Fraktion durch Ultrazentrifugation entfernt, kann das verbleibende lösliche Antigen in winzigen Mengen selbst in erwachsenen Tieren Toleranz induzieren. Die aggregierte Fraktion hingegen ist stark immunogen.

Stoffe, die leicht phagozytiert werden, wirken immunogen, während Stoffe, die schwer phagozytiert werden, tolerogen wirken. Das biologische Filtrieren durch Phagozyten entspricht offensichtlich dem Ultrazentrifugieren in den Experimenten von Dresser.

Der Substitutionsgrad eines Trägers mit einem Hapten, wie auch die chemische. Zusammensetzung des Trägers, können die Toleranzinduktion wesentlich beeinflussen. In den Versuchen von Nossal et al. *(1978)* wurden verschiedene Mengen Fluorescein an humanes Gammaglobulin gekoppelt. Je größer die gekoppelte Fluorescein-Menge war, umso leichter konnte eine Toleranz induziert werden. Ein weiterer interessanter Aspekt dieser Versuche war die Beobachtung, daß Fluorescein-Gammaglobulin tolerogen, während Fluorescein-F(ab')2 immunogen wirkte. Eine besonders starke Toleranz wurde durch Kopplung des Haptens an autologes Immunglobulin erzielt. In diesem Fall konnte selbst in reifen B-Zellen relativ leicht eine Toleranz induziert werden.

Die Induktion einer Stimulation mit Fluorescein-F(ab')2 und einer Suppression mit Fluorescein-IgG weisen darauf hin, daß die Fc-Region des IgG für die Toleranzinduktion wichtig ist. Die Besetzung des Fc-Rezeptors der B-Zellmembran löst ein negatives Signal aus.

Unsere Arbeiten führten in einem anderen Versuchsansatz zu einer ähnlichen Schlußfolgerung. Autologes IgG verursachte eine Fc-abhängige B-Zellsuppression. Voraussetzung dafür war allerdings die gleichzeitige Besetzung des Antigenrezeptors. Wurde an Stelle des autologen IgG heterologes IgG verwendet, war die $4x10^6$-fache Menge erforderlich, um die gleiche Wirkung zu erzielen (Terness et al. 1992 a, b). Dieser Effekt ist möglicherweise auf eine stärkere Bindung des autologen IgG an den Fc-Rezeptor zurückzuführen.

D. ANTIGENMENGE

Die Menge des verabreichten Antigens beeinflußt das Ausmaß und die Dauer der Toleranz. Supraimmunogene Antigenmengen führen oft zu immunologischer Areaktivität. Manche T-abhängigen Antigene bewirken in zwei unterschiedlichen Konzentrationsbereichen (unterhalb und oberhalb der immunogenen Dosis) eine Toleranz. Bei niedrigen Konzentrationen werden T-Zellen tolerant gemacht, bei hohen Konzentrationen B- und T-Zellen. Dieses Phänomen wurde als „low and high zone tolerance" bezeichnet. Die erforderliche Antigenmenge, um reife T-Zellen tolerant zu machen, ist um ein Vielfaches geringer (manchmal 1000x) als die tolerogene Menge für B-Zellen. Allerdings hängt die erforderliche Antigenmenge bei B-Zellen von der Affinität des Antigenrezeptors ab. Hochaffine B-Zellen werden leichter tolerant als niederaffine Zellen. Ähnliche Regeln gelten auch für T-Zellen.

Eine interessante Methode, durch große Antigenmengen Toleranz zu induzieren, ist die Übertragung von „massiven Transplantaten" (massive grafts). Ballantyne et al. *(1969)* tauschten das gesamte Fell einer Ratte gegen ein Kaninchenfell aus. Dieses massive Hauttransplantat überlebte 2–3 mal länger als ein kleines Stück Haut in Kontrolltieren. Setzt man auf das massive Hauttransplantat ein kleineres Transplantat von Drittspendern, wird dieses prompt abgestoßen. Ähnliche Ergebnisse wurden mit Allotransplantaten erzielt. Rother et al. *(1967)* führten Untersuchungen zur Klärung des Pathomechanismuses dieser Toleranz durch. Erstaunlicherweise zeigten die Ergebnisse, daß die Immunantwort des Empfängers weitgehend intakt war. Es

konnten keine Änderungen der wichtigen Mediatorsysteme festgestellt werden, obwohl, wie von der gleichen Arbeitsgruppe gezeigt, humorale Mediatoren (z.B. Komplement) an der Abstoßungsreaktion beteiligt sind.

E. WEGE DER ANTIGENVERABREICHUNG

Subkutane und intramuskuläre Behandlungen führen meistens zur Immunantwort, während intravenöse und besonders orale Behandlungen leichter zur Toleranz führen. Die Erklärung liegt wahrscheinlich darin, daß bei oraler Verabreichung der „biologische Filter" das immunogene Material aus der Antigenpräparation entfernt, während der unverarbeitete, tolerogene Anteil zurückbleibt.

F. FÖRDERNDE EINGRIFFE

Die Toleranzinduktion wird generell durch Maßnahmen gefördert, die die T-Zellhilfe mindern. Experimentelle Daten unterstützen die Annahme, daß das IL2 der Induktion einer Toleranz entgegenwirkt. Stimuli, die die IL2-Produktion fördern (z.B. Concanavalin A, Graft-versus-Host Reaktion), blockieren die Toleranzinduktion.

Malkovský und Medawar *(1984)* zeigten, daß die Verabreichung von IL2 unmittelbar nach der Behandlung neugeborener Mäuse mit allogenen Zellen die Toleranzinduktion verhindert. Zum anderen wurde gezeigt, daß neonatale Milzzellen nach Con A-Stimulation kein IL2 produzieren. Diese altersbedingt fehlende IL2-Produktion liefert eine Erklärung für die besondere Ansprechbarkeit neonataler Tiere auf tolerogene Stimuli. Behandlungen, die die IL2-Produktion hemmen (z.B. Cyclosporin A, Cortison etc.), favorisieren die Toleranzinduktion. Die Entfernung von IL2-produzierenden Zellen „in vivo" (z.B. durch Behandlung mit Anti-CD4 oder ATG) führt zu einer Toleranz gegenüber gewissen Antigenen. So zum Beispiel zeigten Pierson et al. *(1989)*, daß die Überlebenszeit von Affen- oder Kaninchen-Hauttransplantaten in Mäusen durch Behandlung der Empfänger mit Anti-CD4 Antikörpern erheblich verlängert wird.

Neueste Experimente zeigten, daß die Bindung eines Anti-CD4 Antikörpers an eine $\alpha\beta$ T-Zelle zu deren Tod führt. Voraussetzung dafür ist allerdings die gleichzeitige Besetzung des Antigenrezeptors *(Newell 1990)*. Der Tod wird durch Zellaktivierung mit darauffolgender Apoptose verursacht.

In manchen Ansätzen hat man versucht, die Wirksamkeit der Behandlungen „in vivo" durch Kopplung von Toxinen an CD4 Antikörper zu steigern. Kernan et al. *(1988)* haben einen Patienten mit akuter, Steroid-resistenter Graft-versus-Host Reaktion mit einem Rizin–gekoppelten Anti-T-Zell Antikörper erfolgreich behandelt.

Die Blockierung der IL2-Rezeptoren führte in experimentellen Ansätzen zur Verlängerung des Transplantatüberlebens. Kirkman et al. *(1985)* ist es gelungen, das Überleben von Herztransplantaten in der Maus durch Behandlung mit einem monoklonalen Anti-IL2-Rezeptor Antikörper deutlich zu verlängern.

Eine elegante Alternative zur Behandlung mit Anti-IL2-Rezeptor Antikörpern ist der Einsatz von Toxin-gekoppeltem IL2 *(Kirkman et al. 1989)*. Auf diese Weise werden die IL2-Rezeptoren von ihren natürlichen Liganden besetzt und die aktivierten Lymphozyten durch das gekoppelte Toxin zerstört.

Die totale Lymphknotenbestrahlung (total lymphoid irradiation=TLI) macht erwachsene Tiere empfindlicher für eine Toleranzinduktion. Die Empfänger verhalten sich immunologisch wie neugeborene Tiere *(Slavin et al. 1978)*. In der TLI werden die wichtigsten Lymphknotengruppen wiederholt mit geringen Dosen bestrahlt, so daß letztlich die kumulative Gesamtdosis sehr hoch ist. Durch die Abschirmung der wichtigsten nichtlymphatischen Organe mit Blei gelingt es selbst bei Gesamtdosen von 4000 rads, schwerwiegende Nebenwirkungen zu vermeiden. Diese Behandlung bewirkt eine „Zeitlücke", in der eine langzeitige Toleranz gegenüber vielen Antigenen, einschließlich Transplantationsantigenen, induziert werden kann. Es kommt so zur Bildung von Knochenmarkchimären ohne die Entwicklung der gefährlichen Graft-versus-Host Erkrankung. Die Toleranz scheint in diesem Fall durch die Entwicklung spezifischer Suppressorzellen verursacht zu werden *(Strober 1984)*. Diese Zellen, auch als natürliche Suppressorzellen bekannt, sind in der Milz von neugeborenen als auch von bestrahlten erwachsenen Tieren gefunden worden und tragen keine T-Zellmarker. Sie sind zwar phänotypisch mit den NK-Zellen verwandt, jedoch funktionell unterschiedlich (sie killen keine NK-sensitiven Zielzellen!).

4. ZWEI FORMEN DER TOLERANZ

Es gibt zwei Formen der Toleranz: die vollständige Toleranz und die unvollständige Toleranz oder spezifische Areaktivität. Eine *vollständige Toleranz* wird meistens durch Eingriffe bei Neugeborenen oder durch völlige Ausschaltung des Immunsystems bei Erwachsenen erworben. Letzteres wird

durch die bereits erwähnte Ganzkörperbestrahlung oder durch TLI, gefolgt von Rekonstitution mit Spenderknochenmark *(Strober 1984)* erreicht. Besonders interessant erwies sich ein von Sachs entwickeltes Modell, in dem nach der Ganzkörperbestrahlung der Empfänger mit seinem eigenen T-Zell-depletierten Knochenmark und dem Spender-Knochenmark rekonstituiert wurde. Das führte zu einer starken Verminderung der Graft-versus-Host Erkrankung *(Ildstad, Bluestone, Sachs 1986)*. Zur Induktion einer vollständigen Toleranz scheint es wichtig zu sein, eine Depletion der peripheren Lymphozyten, besonders der CD4 Zellen, zu erreichen. Die Anwesenheit des Thymus bzw. das Ausmaß der Kolonisierung des Thymus mit dendritischen Spenderzellen steht interessanterweise in direkter Korrelation zum Ausmaß der Toleranz *(Roser et al. 1979)*. Die vollständige Toleranz geht mit einem lymphohämatopoetischen Chimärismus einher. Die Tiere weisen einen vollständigen Verlust der immunologischen Reaktivität gegenüber dem Spender auf. Selbst wiederholte Hauttransplantationen, die bekanntlich stark immunogen wirken, lösen keine Abstoßung aus. Roser und Dorsch *(1979)* zeigten, daß diese Form der Toleranz durch rezirkulierende T-Zellen in ein anderes Tier übertragen werden kann. Allerdings war das nur dann möglich, wenn der Empfänger vorher bestrahlt wurde.

Die spezifische Areaktivität ist eine *unvollständige Toleranz*, die hauptsächlich in erwachsenen Tieren durch verschiedene Eingriffe, die das Transplantatüberleben wesentlich verlängern, induziert wird. Diese Tiere reagieren zwar schwach gegen das transplantierte Gewebe, stoßen jedoch Hauttransplantate von Drittspendern ab. In der gemischten Lymphozytenkultur oder Graft-versus-Host Reaktion behalten die Lymphozyten des Empfängers ihre Reaktivität. Der Chimärismus ist für diesen Zustand nicht charakteristisch. Es gibt viele Modelle, in denen diese abgeschwächte Form der Toleranz induziert wird. Viele dieser Modelle sind auch als „immunologisches Enhancement" bekannt. Dabei unterscheidet man zwischen aktivem und passivem Enhancement. Die wichtigsten Eingriffe zur Induktion eines passiven Enhancement waren Behandlungen mit Anti-Spender Antikörpern *(Stuart et al. 1968; French, Batchelor 1969)*. Aktives Enhancement wurde durch Immunisierung mit Spenderantigenen (z.B. Bluttransfusionen) induziert. Obwohl Immunisierungen mit Spenderantigenen vor Transplantation generell zu einer beschleunigten Abstoßung führen, kann es unter gewissen Umständen zu einem verlängerten Transplantatüberleben kommen. Experimente mit MHC Klasse I- oder II-transfizierten Zellen zeigten, daß die tolerogene Eigenschaft eines Spenderantigens von seiner Struktur und von der verabreichten Dosis abhängt *(Madsen et al. 1988)*.

Eine Areaktivität kann auch durch Entfernung der Leukozyten aus dem Spenderorgan erreicht werden. Die Rolle der „passenger leucocytes" in der Abstoßung der Nierentransplantate wurde hauptsächlich durch die Arbeiten

von Batchelor und Mitarbeitern *(Lechler, Batchelor 1982)* geklärt. Leukozyten-depletierte Nieren riefen in einem Spender keine T-Zellantwort hervor. Eine äußerst geringe Anzahl von dendritischen Spenderzellen konnte die Immunantwort wieder herstellen. Dendritische Zellen gehören zu einer kleinen Subpopulation lymphoider Zellen (ca. 1% der Gesamtzellen eines Organes), die sich sowohl von Makrophagen als auch von Lymphozyten unterscheiden. Eine Erklärung für diese Ergebnisse liefert das „Zwei Signal" Modell der T-Zellaktivierung *(Übersicht bei Gill, Lafferty 1989)*. Dieses Modell besagt, daß T-Zellen durch 2 Signale aktiviert werden. Das Signal 1 (Antigen) wird durch die Besetzung des T-Zellrezeptors und das Signal 2 durch ein induzierendes Molekül (Kostimulator) ausgelöst.

Antigenpräsentierende Zellen mit einem bestimmten „stimulatorischen Phänotyp" (S+) produzieren Kostimulatoren, während Zellen, die diesen Phänotypen nicht tragen (S–), solche Moleküle nicht produzieren. Da der S+ nur auf lymphoretikulären Zellen exprimiert wird, ist klar, warum Leukozyten besonders stark immunogen sind bzw. warum die Entfernung der Leukozyten die Immunogenität eines Transplantates herabsetzt. Die Freisetzung des Kostimulators wird durch die Beteiligung der MHC Moleküle ausgelöst. Diesem Modell zufolge ist die immunogene Eigenschaft der MHC Moleküle nicht die Konsequenz ihrer Antigenität, sondern die Folge ihrer Rolle als Kontrollstrukturen bei der Freisetzung des Kostimulators. MHC Moleküle wirken nur dann immunogen, wenn sie auf S+ Zellen exprimiert werden. Da S+ Zellen (z.B. dendritische Zellen) MHC Klasse II Antigene tragen, sind MHC II+ Zellen die wichtigste immunogene Komponente des Transplantates.

5. MECHANISMEN DER TOLERANZINDUKTION

Es gibt mehrere Wege zur Entwicklung einer Toleranz. Neuere Erkenntnisse zeigen, daß sowohl B-Zellen als auch T-Zellen unter bestimmten Umständen tolerant werden können, und zwar unabhängig voneinander und auf unterschiedliche Weise. B- und T-Zellen unterscheiden sich nicht nur darin, auf welche Weise sie eine Toleranz ausbilden, sondern sie haben auch während ihrer Ontogenese eine unterschiedliche Bereitschaft zur Toleranzentwicklung.

B-ZELLE

Über welchen Mechanismus Toleranz induziert wird, hängt vom Reifungsstadium der B-Zelle, vom Antigen und von der Art der Antigenpräsentation ab (s. Abb. 40).

A. KLONALER ENTWICKLUNGSABBRUCH

Während ihrer Reifung verwandeln sich B-Zellen aus Toleranz-empfindlichen und immunareaktiven in Toleranz-unempfindliche und immunreaktive Zellen. Selbst wenn diese Aussage eine gewisse Vereinfachung der Tatsachen darstellt, steht aus vielen Beobachtungen fest, daß unreife B-Zellen besonders empfindlich für Toleranz sind. Der klonale Entwicklungsabbruch betrifft die Toleranzinduktion in unreifen B-Zellen. Dazu gibt es zwei Wege: die „clonal abortion" und die klonale Anergie.

In einer bestimmten Phase der ontogenetischen Entwicklung führt der Kontakt eines Lymphozyten mit dem Antigen zum Tod der Zelle. Dieser Prozeß wurde als „*clonal abortion*" bezeichnet *(Übersicht bei Nossal 1989)*. Die „clonal abortion" unterscheidet sich von der klonalen Deletion. „Clonal abortion" heißt eine Elimination der Zelle, bevor sie ein immunkompetenter

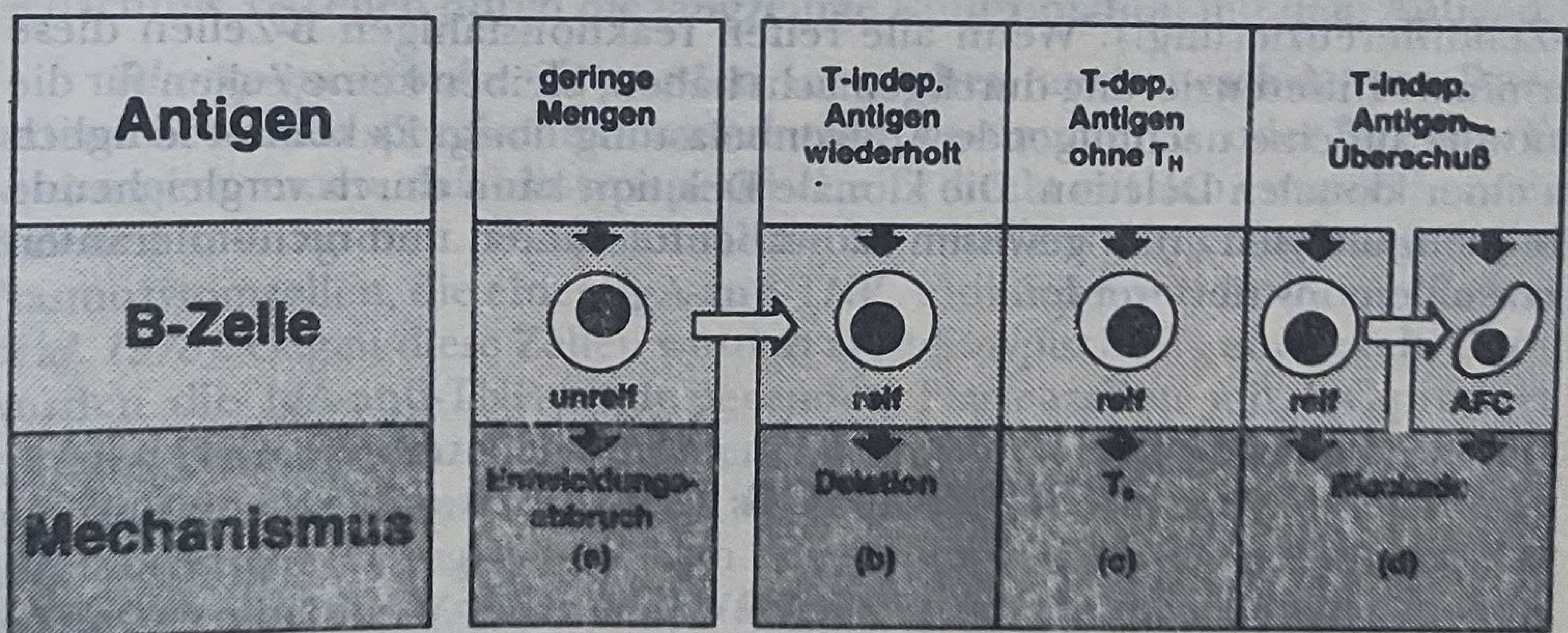


Abb. 40. Mechanismus der B-Zelltoleranz.

peripherer Lymphozyt geworden ist. Klonale Deletion heißt die Elimination eines bereits funktionsreifen Lymphozyten.

Eine weitere Form der Toleranz in unreifen B-Zellen ist die *klonale Anergie*. Unreife Zellen bekommen während des Antigenkontaktes ein suppressives Signal, das sie zwar inaktiviert aber nicht killt. Folgendes Experiment verdeutlicht diese Form der Toleranz. Junge Mäuse wurden durch intrauterine oder neonatale Exposition gegen ein Hapten tolerant gemacht *(Nossal 1989)*. Die darauffolgenden durchflußzytometrischen Untersuchungen der Milzzellen zeigten, daß die Tiere eine normale Zahl Anti-Hapten-reaktiver B-Zellen besaßen. Obwohl diese Zellen vorhanden waren, konnten sie auf den antigenen Reiz nicht reagieren. Dieser Befund erhebt viele Fragen:

Welches ist der Mechanismus dieser Inaktivierung?
Ist die Anergie reversibel?
Ist die Anergie vollständig oder partiell?
Kann eine Anergie auch in reifen B-Zellen induziert werden?

B. KLONALE DELETION

Wiederholte Konfrontationen mit einem bestimmten T-unabhängigen Antigen in immunogenen Dosen können zur Toleranz führen. Bei dieser Form der Toleranz differenzieren sich alle reifen B-Zellen, die auf das Antigen antworten, zu kurzlebigen AFC (Antibody Forming Cells) (Endstadium der B-Zelldifferenzierung!). Wenn alle reifen reaktionsfähigen B-Zellen diese terminale Differenzierung durchgemacht haben, bleiben keine Zellen für die Antwort auf eine nachfolgende Antigenbelastung übrig. Es kommt lediglich zu einer klonalen Deletion. Die klonale Deletion kann durch vergleichende Frequenzanalysen eines gewissen Klons bei toleranten und nicht-toleranten Tieren demonstriert werden.

C. SUPPRESSOR T-ZELLEN

T-abhängige Antigene induzieren nur mit Hilfe spezifischer T-Zellen eine B-Zellantwort *(Schimpl und Wecker 1972; Dutton 1975)*. Bei einer Antikörperantwort auf T-abhängige Antigene bindet die B-Zelle an eine

Determinante des Antigens und erhält Hilfe von einer spezifischen T-Zelle (T_H), die gegen eine andere Determinante des gleichen Antigens gerichtet ist. Wenn keine T-Zellhilfe zur Verfügung steht, kann die B-Zelle normale Antwort liefern. Die T-Zellhilfe kann durch entsprechende *antigenspezifische Suppressor T-Zellen* (T_S) unterdrückt werden. Es kommt so zu einer funktionellen B–Zelldeletion, d.h. die antigenspezifischen B-Zellen sind zwar vorhanden, können jedoch gegen ihr Antigen nicht reagieren.

Eines der ersten Experimente, das die T_S-Aktivität nachwies, war Teil einer Untersuchung über den Mechanismus der Toleranzinduktion. Gershon und Kondo *(1970, 1972)* zeigten, daß die Maus nach Transfusion großer Mengen Schafserythrozyten keine Antikörper produziert bzw. tolerant wird. Diese Toleranz konnte mit T-Zellen in ein anderes Tier übertragen werden. Man nahm an, daß die Toleranz von suppressiven T-Zellen vermittelt wurde. Dieser Mechanismus wurde später durch zahlreiche Befunde bestätigt. Darüber hinaus wurde gezeigt, daß es *Gedächtnis-T_S-Zellen* gibt: große Antigenmengen induzierten zunächst übliche T_S-Zellen, während die anschließende Dauerbehandlung mit geringeren Antigenmengen zur Entwicklung von Gedächtnis-Ts-Zellen führte.

Es ist möglich, daß eine B-Zelltoleranz durch die Kombination von klonaler Deletion und Induktion von T_S-Zellen zustandekommt. Eine Behandlung mit großen Antigenmengen führt zu einer Deletion der entsprechenden B-Zellen und gleichzeitig zur Induktion antigenspezifischer T_S-Zellen. Diese T_S-Zellen verhindern künftige Antikörperantworten gegen das gleiche Antigen. Im Falle der Toleranz gegen Autoantigene oder Transplantate gilt das gleiche Szenario, mit zusätzlicher Entwicklung von Gedächtnis T_S-Zellen durch die langzeitige Konfrontation mit dem Antigen.

Idiotyp-spezifische Ts wurden inzwischen auch beschrieben. Diese unterdrücken die spezifische Immunantwort bestimmter T- oder B-Zellen. Es wird angenommen, daß Idiotyp-spezifische T_S direkt mit den entsprechenden B-Zellen interagieren. Diese Annahme stammt aus Untersuchungen von Plasmozytomzellen, die einen IgA-anti-TNP Antikörper produzieren *(Rohrer et al. 1978)*. Gegen diese Zellen wurden antiidiotypische T_S entwickelt. Dann wurden die IgA-anti-TNP-produzierenden Plasmazellen mit IgG-produzierenden Plasmozytomzellen fusioniert. Die hybriden Zellen erzeugten sowohl IgA (mit dem relevanten Idiotyp) als auch IgG. Wurden zu diesen Zellen antiidiotypische T_S zugegeben, kam es zur Suppression der IgA-, nicht aber der IgG-Produktion *(Abbas et al. 1980)*. Weitere Untersuchungen zeigten, daß die T_S gegen eine idiotypische Determinante gerichtet waren, die in der VH-Region des IgA lag, und daß die Wirkung über einen löslichen Faktor ausgelöst wurde.

D. BLOCKADE DER B-ZELLE

T-unabhängige Antigene sind Polymere mit repetitiven antigenen Determinanten und einem hohen Molekulargewicht, die mit den B-Zellen vielfache Bindungen eingehen können, so daß auf die T-Zellhilfe verzichtet werden kann. T-unabhängige Antigene im Überschuß können reife B-Zellen blockieren. Es kommt zu einer funktionellen Deletion (die vorhandenen antigenspezifischen B-Zellen konnen nicht antworten!).

Besonders schwierig ist es, AFC tolerant zu machen. Ähnlich wie bei reifen B-Zellen gelingt das manchmal durch Anwendung sehr hoher Dosen von T-unabhängigen Antigenen. Unter diesen Umständen scheint die große Antigenmenge die Oberflächenrezeptoren der Zelle zu blockieren und so die Antikörpersekretion zu stören. Schrader und Nossal *(1974)* demonstrierten diesen Effekt, indem sie AFC mit ihrem spezifischen Antigen inkubierten. Nach 30 Minuten verloren 50% der B-Zellen ihre Reaktivität gegen das Antigen. Die Suppression wurde durch Bindung des Antigens an die Oberflächen-Immunoglobuline ausgelöst.

T-ZELLE

Seit den ersten Experimenten in neugeborenen Mäusen *(Billingham, Brent, Medawar 1953)* ist angenommen worden, daß der Mechanismus der Toleranzinduktion gegen Fremd- und Eigengewebe identisch ist. Vor kurzem erst ist klar geworden, daß das jeweilige Entwicklungsstadium des Immunsystems für den Mechanismus bestimmend ist. Da Autoantigene bereits zu Beginn der embryonalen Entwicklung vorhanden sind und Fremdantigene erst später injiziert werden, sprechen sie Lymphozyten verschiedener Reifungsstadien an. Das ausschlaggebende Ereignis in der Entwicklung des Immunsystems ist die Expression des T-Zellrezeptors im Thymus und seine Verbreitung in der Peripherie. Dieses Ereignis beginnt im Maus- oder Rattenembryo am Tag 16–17 *(Owen et al. 1986)* und bestimmt den Anfang der immunologischen Reaktivität der T-Zellen. Roser *(1989)* nimmt an, daß Fremdantigene, die zum Zeitpunkt der Geburt injiziert werden, bereits funktionsfähige T-Zellen vorfinden und über die Induktion von Suppressorzellen zur Toleranz führen. Allerdings stellen die funktionsfähigen T-Zellen nur einen gewissen Anteil der peripheren Lymphozytenpopulation dar.

Der Antigenkontakt mit unreifen T-Zellen hingegen führt zu einer „clonal abortion“. Das geschieht hauptsächlich dann, wenn das Antigen in einer frühen Phase der Entwicklung mit dem Immunsystem konfrontiert wird, unabhängig davon, ob das Antigen fremd oder körpereigen ist.

Daß die von Roser entwickelte Hypothese eine Vereinfachung der Tatsachen darstellt, zeigt bereits das im nächsten Kapitel beschriebene Experiment, in dem eine neonatale Toleranz nicht auf T_S-Zellen zurückgeführt werden konnte.

A. KLONALER ENTWICKLUNGSABBRUCH

Nossal und Pike *(1981)* haben CBA Mäuse (Empfänger) gegenüber BALB/c Antigenen (Spender) durch neonatale Behandlung tolerant gemacht. Anschließend wurde in regelmäßigen Abständen die Frequenz der zytotoxischen Anti-Spender Vorläufer-T-Zellen bestimmt. Eine drastische Abnahme der Anti-Spenderzellen (bis zu 95% nach 6 Wochen) wurde beobachtet. Das Testverfahren zur Bestimmung der Zellen war T_H- oder T_S-Zell unabhängig. Das Experiment zeigt, daß es zu einer Ausschaltung der Anti-Spenderzellen gekommen war, die nicht von T_S verursacht wurde. Dieser klonale Entwicklungsabbruch (Abb. 41) beruht entweder auf einer *„clonal abortion“* oder auf einer *Anergie* der spenderreaktiven T-Zellen.

Untersuchungen zeigten, daß die Interaktion der CD4+8+ Vorläufer T-Zellen mit dem (MHC + Peptid) Komplex, der auf Makrophagen oder

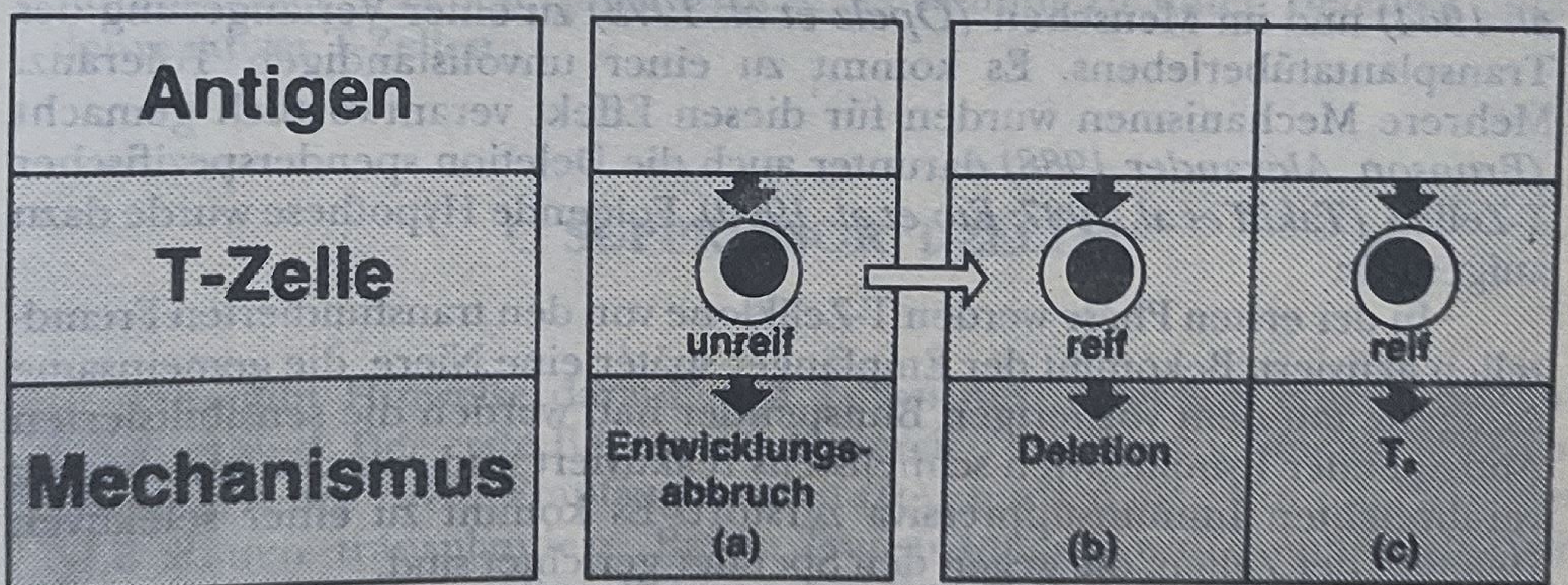


Abb. 41. Mechanismus der T-Zelltoleranz.

dendritischen Zellen exprimiert wird, zum Tod der T-Zelle durch Apoptose und somit zu ihrer Elimination („clonal abortion") führt *(Übersicht bei Ramsdell et al. 1990)*. Die Apoptose kommt durch Aktivierung der endogenen Endonuklease zustande. Diese führt zur Chromatin-Spaltung und Zellkernkondensierung. Anschließend werden die sterbenden Zellen über den Vitronectin-Rezeptor der Makrophagen erkannt und phagozytiert *(Savill et al. 1990)*.

Man nimmt an, daß T-Zellen in einem späteren Entwicklungsstadium durch Kontakt mit dem (MHC+Peptid) Komplex auf thymischen Epithelialzellen inaktiviert werden. Die Ursache dieser Inaktivierung (Anergie) liegt darin, daß Epithelialzellen nur ein Signal (MHC+Peptid) an die T-Zellen abgeben können. Zur Aktivierung benötigt die T-Zelle ein zweites, kostimulatorisches Signal. Die Hauptaufgabe der Epithelialzellen liegt eigentlich darin, während der ontogenetischen Entwicklung T-Zellen mit eigenem MHC herauszupicken, sie also positiv zu selektieren.

B. KLONALE DELETION

Obwohl die überwiegende Mehrheit der Versuche zur Toleranzinduktion in erwachsenen Tieren darauf hinweisen, daß der Mechanismus über suppressive Faktoren oder Suppressorzellen abläuft *(Übersicht bei Möller 1989)*, gibt es auch Hinweise, daß unter gewissen Umständen die Deletion Antigen-reaktiver T-Zellen eine Rolle spielt.

Bluttransfusionen führen unter gewissen Umständen im Tier *(Halasz et al. 1964)* und im Menschen *(Opelz et al. 1973)* zu einer Verlängerung des Transplantatüberlebens. Es kommt zu einer unvollständigen Toleranz. Mehrere Mechanismen wurden für diesen Effekt verantwortlich gemacht *(Brunson, Alexander 1988)* darunter auch die Deletion spenderspezifischer T-Zellen *(Takiff et al. 1987; Eto et al. 1990)*. Folgende Hypothese wurde dazu aufgestellt:

In der ersten Phase werden T-Zellklone von den transfundierten Fremdzellen aktiviert. Bekommt der Empfänger später eine Niere, die gemeinsame Antigene mit dem vorherigen Blutspender hat, werden die sensibilisierten Anti-Spender Lymphozyten schnellstens reaktiviert und von den gleichzeitig verabreichten Immunsuppressiva zerstört. Es kommt zu einer selektiven Deletion der Zellen, die gegen den Spender gerichtet sind.

Folgende Argumente unterstützen diese Hypothese *(Terasaki 1984)*:

– Der stärkste Transfusionseffekt wird durch Kombination mit Immunsuppressiva erzielt. So überlebten zum Beispiel Nieren bei Empfängern, die Bluttransfusionen und ALS bekamen, länger als nach alleiniger Behandlung

mit ALS *(Spees et al. 1980)*. Diese klinischen Beobachtungen wurden von tierexperimentellen Daten unterstützt *(Brent et al. 1973)*. Allerdings gibt es Versuche, die zeigen, daß auch Bluttransfusionen alleine eine Transplantat-schützende Wirkung haben *(Terness et al. 1988)*.

– Eine erfolgreich mit Immunsuppressiva behandelte Abstoßung wird von einem langen Überleben der transplantierten Niere gefolgt. Die Ursache dafür ist die Elimination spenderreaktiver Klone. Gelingt es, alle Anti-Spender Klone zu eliminieren, kommt es zu einem endgültigem Einwachsen der Niere.

– Corticosteroide, die sehr häufig zur Behandlung der Abstoßung eingesetzt werden, haben eine lymphozytotoxische und antiproliferative Wirkung. Dadurch werden die von der Bluttransfusion sensibilisierten Lymphozyten eliminiert. Ähnliche Wirkungen haben auch andere Immunsuppressiva.

– Es gibt Untersuchungen, die zeigen, daß Bluttransfusionen vom zukünftigen Nierenspender sich positiv auf das Transplantat auswirken *(Salvatierra et al. 1980, 1981)*. Die Erklärung liegt in der gezielten Aktivierung und Ausschaltung der Anti-Spender-Klone. Der positive Effekt der Bluttransfusion auf das Transplantat wird durch Beschichtung der Blutzellen vor der Transfusion mit Anti-Spender Antikörpern wesentlich verstärkt *(Terness et al. 1988)*. Hutchinson und Zola *(1977)* zeigten, daß die Immunisierung mit Antikörper-bedeckten Antigenen zur Deletion der spezifischen T-Zellen führt. Der Mechanismus, der als Antigen-Reactive-Cell-Opsonization (ARCO) bezeichnet wurde, läuft folgenderweise ab: Die T-Zellen des Empfängers binden an die verabreichten Spenderantigene. Gleichzeitig binden aber auch Empfänger-Makrophagen an die Antikörper-bedeckten Antigene. Dadurch wird der gesamte Immunkomplex, einschließlich der Anti-Spender T-Zellen, phagozytiert. Es kommt zu einer Deletion Spender-reaktiver T-Zellen.

C. SUPPRESSOR T-ZELLEN

Es gibt Hinweise darauf, daß Ts bei der Induktion einer Toleranz beteiligt sind. Der erste Beweis wurde durch Transferexperimente erbracht *(Dorsch, Roser 1975)*. Empfängerratten (DA) wurden mit Haut von PVG oder ALB Ratten transplantiert. Beide Transplantate wurden innerhalb von wenigen Tagen abgestoßen. Bekamen die Empfänger jedoch T-Zellen von DA Ratten, die neonatal gegen PVG tolerant gemacht wurden, verhinderte dies die Abstoßung des PVG-Transplantates, während das ALB-Transplantat normal abgestoßen wurde. Das beweist, daß die übertragenen „toleranten"

Lymphozyten Suppressor-Zellen enthalten, die die Immunantwort gegen PVG spezifisch hemmen. Wäre die Toleranz ausschließlich durch klonale Deletion zustandegekommen, dürfte es durch den Zelltransfer zu keiner Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit gekommen sein.

Weitere Untersuchungen der gleichen Versuchsreihe zeigten, daß die T_S-Zellen der toleranten Tiere Antiidiotypen sind. Diese *antiidiotypischen T_s* sind gegen den Antigenrezeptor jener T-Zellen gerichtet, die die Klasse II Antigene des Spenders erkennen *(Roser 1989)*. In Depletionsversuchen „in vitro" und in Transferversuchen „in vivo" konnten die Suppressor-Zellen als kleine, rezirkulierende Lymphozyten definiert werden. Antiidiotypische T-Zellen wurden auch in einem Nierentransplantations-Modell in der Ratte beschrieben *(Lancaster et al. 1985)*. Empfängertiere, die durch Vorbehandlung mit Spenderzellen oder Immunsuppressiva tolerant gemacht wurden, bekamen eine allogene Niere. Die Überlebenszeit des Transplantates war stark verlängert. In der Milz dieser Tiere gab es Suppressor-Zellen, die in Transferexperimenten die Abstoßungsreaktion spezifisch unterdrückten. Die Ts proliferierten „in vitro", wenn sie mit bestrahlten Empfänger-anti-Spender Lymphoblasten stimuliert wurden. Lymphoblasten, die gegen einen Drittspender gerichtet waren, induzierten keine Stimulation. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß die T_S die Empfänger-anti-spender T-Zellen spezifisch (über ihre idiotypischen Determinanten) erkennen und supprimieren.

Eine spezielle Klasse von Suppressor Zellen sind die *Veto-Zellen*. Es handelt sich hierbei um Spenderzellen, die alle Empfängerlymphozyten, die gegen sie gerichtet sind, supprimieren *(Miller 1980)*. Zytotoxische T-Zellen können unabhängig von der Spezifität ihres Antigenrezeptors als Veto-Zellen funktionieren. Im folgenden Experiment kam es durch Aktivierung der Veto-Zellen zu einer funktionellen klonalen Deletion der Anti-Spender T-Zellen. Empfängermäusen wurden Klasse I-inkompatible Milzzellen injiziert. Die Frequenz der zytotoxischen Anti-Spender T-Zellen nahm nach der Behandlung drastisch ab. Die Abnahme war darauf zurückzuführen, daß die Anti-Spender Lymphozyten des Empfängers an die injizierten Klasse I-inkompatiblen Veto-Zellen banden und von diesen funktionell ausgeschaltet wurden *(Rammensee et al. 1984)*. Die Ausschaltung kam sehr durch Suppression und nicht durch Zytotoxizität (Tötung) zustande.

In einer eleganten Versuchsreihe konnten Sercarz et al. *(1989)* beweisen, daß es innerhalb mancher Antigene Peptidsequenzen gibt, die T_H-Zellen und andere die T_S-Zellen aktivieren. Wenn die genetisch bedingte Areaktivität mancher Mäusestämme auf die Induktion von *Antigen-spezifischen T_S-Zellen* beruht, dann müßte die Entfernung der T_S-induzierenden Determinanten eines Antigens die Areaktivität des Tieres aufheben. In der Tat konnte gezeigt werden, daß durch Abspaltung gewisser Aminosäuren ein

suppressives Antigen in ein immunogenes verwandelt wird. Die Immunisierung mit diesem „amputierten" Antigen führte in den areaktiven Stämmen zur Aktivierung von T_H-Zellen.

6. DER WESTFÄLISCHE FRIEDEN?

Der Dreißigjährige Krieg der Immuntoleranz hat sich hauptsächlich zwischen den Verfechtern der klonalen Deletion und der Induktion von T_S-Zellen abgespielt. Zwischenzeitlich haben sich auch Apologeten anderer Theorien dazugesellt, die ihren Mechanismus als ausschlaggebend für die Toleranzinduktion darstellten. Die Situation erinnert mich an die Parabel der Blinden aus der östlichen Mythologie. Mehrere Blinde wurden gebeten, einen Elefanten zu beschreiben. Der Erste ging an den Elefanten heran, traf zufällig ein Bein, tastete es ab und sagte: der Elefant ist eine dicke Stange. Der Zweite stieß an den Schwanz, erkundete diesen und sagte dann: der Elefant ist ein Seil. Der Dritte geriet an die Stoßzähne, untersuchte diese und sagte: der Elefant ist ein Pfeil. Jeder der Blinden beschrieb einen real existierenden Aspekt dieses Tieres: die Beine, den Schwanz, die Stoßzähne und hatte auf seine Weise recht. Ein Elefant besteht jedoch nicht nur aus Beinen, Schwanz oder Stoßzähnen, sondern aus der Gesamtheit dieser Elemente. Auf dem Gebiet der Toleranzforschung ist inzwischen klar geworden, daß es keinen einheitlichen Mechanismus der Toleranzinduktion gibt. In manchen Modellen kommt es zur Deletion, in anderen zur Bildung von T_S-Zellen und in anderen wieder sind beide Mechanismen beteiligt. Darüber hinaus gibt es weitere Wege zur Ausbildung einer Immuntoleranz, wie klonale Anergie *(Quin et al. 1989)*, suppressive Faktoren *(Wood und Monaco 1977)* oder Transplantatanpassung (graft adaptation) *(Hall 1984)*. Die Vielfalt der Mechanismen, die gleichzeitig bei der Toleranzinduktion beteiligt sind, wurde durch jüngste Experimente in Mäusen deutlich gemacht. In erwachsenen Empfängertieren wurde durch Behandlung mit Spenderzellen und Cyclophosphamid Toleranz induziert *(Eto et al. 1990)*. Die Untersuchungen zeigten, daß es in den Empfängern zu folgenden immunologischen Veränderungen gekommen war: Zerstörung der peripheren spenderreaktiven T-Zellen durch Cyclophosphamid, intrathymische klonale Deletion der spezifischen T-Zellen, Entwicklung spezifischer T_S-Zellen, klonale Anergie und intrathymischer Chimärismus.

Obwohl die Arbeiten der letzten Jahrzehnte große Fortschritte bei der Klärung der Mechanismen der Toleranzinduktion verzeichneten, ist es bis heute nicht gelungen, ein überzeugendes Modell für die Klinik zu entwickeln. Die meisten erfolgreichen experimentellen Modelle beruhen entweder auf Manipulationen in Neugeborenen oder auf extrem invasiven Methoden wie hochdosierter Bestrahlung, toxischen Mengen von Zytostatika usw. Neben den brutalen Nebenwirkungen führen diese Behandlungen auch zu einer allgemeinen, unselektiven Immunsuppression. Erst in den letzten Jahren zeichneten sich Methoden ab, die für eine klinische Anwendung geeignet wären.

Von den praktischen Bedürfnissen der klinischen Transplantation ausgehend, haben wir versucht ein Modell zu entwickeln, das technisch leicht durchführbar ist, zu keinen toxischen Nebenwirkungen führt und eine relativ intakte Immunantwort gegen andere Antigene gewährleistet.

Nach der Ausarbeitung eines experimentellen Modells zur Verlängerung des Nierentransplantatüberlebens haben wir gezeigt, daß mit der gleichen Behandlung die humorale Sensibilisierung nach Blut- oder Thrombozytentransfusionen unterdrückt werden kann. Bei der Untersuchung des Mechanismus der induzierten Suppression, entdeckten wir einen regulatorischen Autoantikörper, der während der physiologischen Immunantwort gebildet wird. Dieser Befund führte zur Beschreibung eines neuen immunregulatorischen Mechanismus, der die Antikörperantwort von B-Zellen gegen Allo- und Autoantigene reguliert.

EXPERIMENTELLES MODELL

1. IMMUNISIERUNG MIT SPENDERANTIGENEN: EIN ZWEISCHNEIDIGES SCHWERT

Das Überleben von Transplantaten innerhalb der gleichen Spezies (Allotransplantate) hängt von der Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger ab. Bei Individuen unterschiedlicher Spezies werden Transplantate (Xenotransplantate) gewöhnlich sehr schnell abgestoßen. Transplantate von eineiigen Zwillingen (Isotransplantate) oder vom gleichen Individuum (Autotransplantate) hingegen wachsen endgültig ein.

Der chirurgische Eingriff wird von Allotransplantaten meistens genau so gut wie von Isotransplantaten überlebt. Wenn der Empfänger nicht mit Spenderantigenen vorimmunisiert wurde, können Allotransplantate in der frühen postoperativen Phase von Isotransplantaten makroskopisch kaum unterschieden werden. So zum Beispiel zeigte Medawar *(1944)* in seinen klassischen Experimenten zur Demonstration des immunologischen Ursprungs der Abstoßungsreaktion, daß Hauttransplantate zwischen unverwandten Kaninchen in den ersten Tagen nach der Transplantation „normal" aussehen. Erst nach mehreren Tagen treten Zeichen einer Entzündung in Form von Leukozyteninfiltraten auf. Ungefähr am zehnten Tag kommt es dann zur Nekrose. Das ist die „first set rejection".

Bekommt der Empfänger ein zweites Transplantat von dem gleichen Spender, kommt es zu einer beschleunigten Abstoßung, zu einer sogenannten „second set rejection". Wie bereits vorher erwähnt, ist diese Reaktion spezifisch; sie bezieht sich nur auf den Spender mit dessen Antigene der Empfänger sensibilisiert wurde. Auf zellulärer Ebene allerdings werden bei einer Abstoßung neben spezifischen, gegen den Spender gerichteten Lymphozyten auch zahlreiche unspezifische Zellen aktiviert. Eine der ersten Studien, die das bewies, wurde von Najarian und Feldman *(1962)* durchgeführt. Diese Experimente zeigten, daß nur 1% des Infiltrates aus dem abgestoßenen Gewebe spezifische Anti-Spender Lymphozyten enthielt. Der Rest bestand aus unspezifisch aktivierten Zellen. Diese unspezifischen Infiltrate treten sekundär, als Folge der spezifischen Reaktion auf.

Die klassischen tierexperimentellen Untersuchungen von Mitchison und Dube *(1955)* demonstrierten, daß die spezifische Sensibilisierung gegenüber einem Transplantat mit Lymphozyten nicht aber mit Serum in ein anderes Tier übertragen werden konnte. Dieser Befund, der später auch von anderen Gruppen bestätigt wurde, führte zur Annahme, daß hauptsächlich T-Zellen an der Abstoßung beteiligt sind.

Obwohl es in Transferexperimenten schwierig war, mit Anti-Spender Antikörpern eine Abstoßung zu bewirken, ist man sich darüber einig, daß präformierte Anti-Spender Antikörper, d.h. Antikörper die zum Zeitpunkt der Transplantation bereits vorhanden sind, im Menschen eine hyperakute Abstoßung verursachen *(Patel und Terasaki 1969)*. Die Transplantatschädigung wird durch Antikörper-vermittelte zelluläre Zytotoxizität, Komplementaktivierung mit anschließender Endothelaktivierung, Freisetzung von Kininen bzw. vasoaktiven Peptiden und Aktivierung der Gerinnungskaskade verursacht. Diese Form der Abstoßung entwickelt sich sehr früh nach der Transplantation und kann bei primär vaskularisierten Transplantaten manchmal bereits während der Operation beobachtet werden. Das transplantierte Organ zeigt dann nach Freigabe der Durchblutung nur für kurze Zeit normale Farbe und Konsistenz, wird anschließend fleckförmig

cyanotisch und schwillt an. Wenn die hyperakute Abstoßung erst einige Stunden nach der Transplantation einsetzt, kann das Erlöschen der bereits aufgenommenen Funktion das erste Symptom sein. Das Äquivalent der hyperakuten Abstoßung bei Hauttransplantaten ist das „white graft phenomenon", das anzeigt, daß die transplantierte Haut zu keinem Zeitpunkt vaskularisiert war. Daß Antikörper in der hyperakuten Abstoßung wichtig sind, schließt die Beteiligung von zellulären Mechanismen nicht aus *(Kristensen et al. 1976; Kirkman et al. 1979)*.

Die hyperakute Abstoßung aus der Klinik entspricht der „second set rejection" aus den tierexperimentellen Untersuchungen. Die fehlende Latenzzeit für die Entwicklung von Abstoßungssymptomen zeigt an, daß die gegen den Spender gerichtete Abwehr nicht erst aktiviert werden muß, sondern bereits vorhanden ist. Diese Vorsensibilisierung kommt hauptsächlich durch Bluttransfusionen, Schwangerschaften oder vorherige Transplantationen zustande. Beim Vorliegen von Antikörpern gegen HLA Klasse I Antigene kommt es mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer hyperakuten Abstoßung *(Patel und Terasaki 1969; Carpenter et al. 1976)*. Hingegen ist fraglich, ob Antikörper gegen Klasse II Antigene bei der Abstoßung eine Rolle spielen *(Ting et al. 1978)*. Außer den präformierten HLA Antikörpern gibt es Antikörper, die gegen Blutgruppen-Antigene gerichtet sind. Diese Antikörper sind bei ABO-inkompatiblen Transplantationen für die hyperakute Abstoßung verantwortlich. Die meisten Empfänger haben außerdem sogenannte „natürliche" Antikörper, die gegen Gewebe anderer Spezies gerichtet sind und zur Abstoßung xenogener Transplantate führen *(Hardy et al. 1984)*.

Die vorherigen Ausführungen zeigen, daß die Immunisierung mit Spenderantigenen die Gefahr einer hyperakuten Abstoßung birgt. Da diese Form der Abstoßung weitgehend therapieresistent und deshalb sehr gefürchtet ist, wurde in der Vergangenheit bei der Behandlung prospektiver Transplantatempfänger größter Wert auf die Vermeidung von Alloimmunisierungen gelegt. In der Klinik ist die wichtigste Ursache für eine Alloimmunisierung die Transfusionsbehandlung. So wurde über viele Jahre vermieden, prospektive Transplantatempfänger zu transfundieren.

Gegen alle Erwartungen zeigte Opelz *(1973)*, daß Empfänger, die vor der Transplantation Bluttransfusionen bekamen, eine bessere Überlebenszeit der transplantierten Niere aufwiesen als nicht-transfundierte Empfänger.

Der Mechanismus des Bluttransfusionseffektes blieb zum Teil ungeklärt. Die verschiedenen Hypothesen, die im Laufe der Zeit aufgestellt wurden, lassen sich in drei Gruppen unterteilen *(Brunson und Alexander 1988)*.

– Der *Selektionshypothese* zufolge führen Bluttransfusionen zur Identifizierung jener Patienten, die gegen einen gegebenen Spender immunologisch stark reagieren. In diesem Szenario wirkt die Bluttransfusion als ein „Antigen-Provokationstest". Bei einem Patienten mit ausgeprägter

Reaktivität gegen die HLA-Antigene der transfundierten Blutzellen kommt es zu einem hohen Antikörpertiter. Dieser Patient wird später aufgrund der positiven Kreuzprobe gegen einen Organspender mit denselben HLA-Antigenen von der Transplantation ausgeschlossen.

– Die zweite Möglichkeit ist die Induktion einer *spezifischen Suppression* gegenüber den transfundierten Alloantigenen. Wenn das zukünftige Spenderorgan mit den transfundierten Zellen gemeinsame Antigene hat, kommt es zu einem verlängerten Transplantatüberleben. Im Tierexperiment scheint es tatsächlich so zu sein, daß nur Transfusionen mit Zellen, die gemeinsame Antigene mit dem Transplantatspender besitzen, das Transplantatüberleben verlängern. In diesem Fall kommt es, wie bereits vorher beschrieben, zur Deletion oder zur Inaktivierung spenderreaktiver Lymphozytenklone. Man nimmt an, daß die aktiven Suppressionsmechanismen von antiidiotypischen Antikörpern oder Suppressor T-Zellen vermittelt werden.

– Die dritte Möglichkeit ist die *unspezifische Suppression*. Folgende allgemeine immunologische Veränderungen können durch Bluttransfusionen verursacht werden: Abnahme des T_H/T_S Verhältnisses, Erniedrigung der NK-Aktivität, Verminderung der Antigenpräsentation durch Makrophagen, Suppression der Lymphozyten-Blastogenese und eine Hemmung der Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ.

Wie kann eine Bluttransfusion so viele Veränderungen verursachen? Eine Erklärung liegt darin, daß Transfusionen zu einer Überladung des retikulo-endothelialen Systems führen, und daß die resultierenden Eisensalze für die breiten funktionellen Auswirkungen verantwortlich sind. Darüber hinaus wurde gezeigt, daß es nach Bluttransfusionen zu einer Abnahme der IL2-Produktion, zu einer Zunahme der Prostaglandin E2-Produktion und zu Veränderungen der Fibronectin und Komplementaktivität kommt. All diese Mediatoren haben immunregulatorische Wirkungen.

Im Laufe der letzten Jahre war die positive Wirkung der Bluttransfusionen auf das Nierentransplantatüberleben in den statistischen Untersuchungen zunehmend schwieriger zu beweisen *(Opelz 1987+1988)*. Interessanterweise wiesen die Studien darauf hin, daß sich in diesem Zeitraum die Erfolgsrate der nicht-transfundierten Patienten deutlich verbessert hatte. Dadurch wurde der Unterschied zu den transfundierten Patienten geringer. Programmierte Transplantationen bei nicht-transfundierten Patienten mit besonderem Augenmerk auf eine frühe Erfassung der Abstoßung und eine höher dosierte immunsuppressive Therapie könnten eine Erklärung für die Verbesserung der Überlebensrate in dieser Gruppe liefern. Die Analyse anderer Parameter wie HLA-Kompatibilität, präformierte Antikörper, Alter, Rasse, Geschlecht und ursprüngliche Krankheit konnten dieses Phänomen nicht erklären.

Daß der Kontakt mit einem Fremdantigen nicht notwendigerweise zur Immunität führt, sondern unter bestimmten Bedingungen die Entwicklung eines Zustandes spezifischer Immunsuppression bewirkt, wird auch von experimentellen Untersuchungen unterstützt.

Tabelle 1

Die Wirkung donorspezifischer Bluttransfusionen auf das Nierentransplantatüberleben

	unbehandelt	transfundiert
Überlebenszeit (Tage)	6, 9, 8, 11, 7, 9, 6, 9 12, 7, 8, 9, 10, 8, 7,	20, 25, 17, 36, 7, 17 39, 25, 34, 7, 6, 454

LEW Ratten wurden 3x in wöchentlichen Abständen mit 1 ml BN Blut transfundiert. Die Kontrollgruppe bekam keine Behandlung. Eine Woche später wurden die Tiere bilateral nephrektomiert und mit einer BN Niere transplantiert.

Bereits zu Beginn dieses Jahrhunderts war bekannt, daß bei der Verpflanzung von Tumoren eine Vorimmunisierung mit getöteten Tumorzellen häufig zu einem verbesserten Wachstum führt *(Flexner und Jobling 1907)*. Kaliss et al. *(1953)* konnten zeigen, daß das verbesserte Tumorwachstum durch Serum übertragbar ist und später demonstrieren, daß die Immunglobulinfraktion des Serums die entscheidende Komponente darstellt *(Kaliss und Kandutsch 1956)*. Ähnliche Beobachtungen wurden auch in bezug auf das Einwachsen von normalem Gewebe gemacht. Selbst Medawar *(1946)*, der Vater der „second set rejection", erzielte durch Alloimmunisierung nicht immer eine beschleunigte Abstoßung. In unseren Untersuchungen wurden Empfängerratten 3x in wöchentlichen Abständen mit Blut eines inkompatiblen Spenders transfundiert. Eine Woche nach der letzten Transfusion wurden die Empfänger bilateral nephrektomiert und mit einer Niere von dem gleichen Spender transplantiert *(Schiffl, Terness und Opelz 1985; Terness et al. 1988)*. Transfundierte Empfänger hatten eine deutlich verlängerte Überlebenszeit im Vergleich zu nichttransfundierten Kontrollen (Tabelle 1). Eine signifikante Verlängerung des Nierentransplantatüberlebens erzielten auch Stuart et al. *(1968)* durch Behandlung der Empfänger mit Spenderantigenen. Die Empfängerratten wurden 24 Stunden vor der Transplantation und dann täglich (bis zu 62 Tagen nach der Transplantation) mit lebenden Spendermilzzellen behandelt. Ockner et al. *(1970)* injizierten Empfängerratten Knochenmark vom zukünftigen Nierenspender. Wurde die Behandlung 1–2 Wochen vor der Transplantation durchgeführt, kam es zu einem verlängerten Transplantatüberleben. Lag die Behandlung über 4 Wochen zurück, kam es zu einer beschleunigten Abstoßung. Nicht nur das Zeitintervall

zwischen Vorbehandlung und Transplantation, sondern auch die Menge der verabreichten Knochenmarkzellen war für die Überlebenszeit ausschlaggebend. Je größer die injizierte Zellzahl, umso stärker war die erzielte Suppression. Der suppressive Effekt konnte mit Serum bzw., mit dessen Immunglobulinfraktion in unbehandelte Tiere übertragen werden. In manchen Versuchsansätzen ist es auch in Hunden oder in Rhesusaffen gelungen, die Überlebenszeit allogener Nieren durch Bluttransfusionen zu verlängern *(Halasz et al. 1964; Es et al. 1977)*. Die Vorbehandlung mit löslichen Spendermilzzellen führte im Hund allerdings nur in Kombination mit immunsuppressiver Therapie zu einer Verlängerung des Transplantatüberlebens *(Wilson et al. 1969)*.

Aus den bisherigen Ausführungen wird klar, daß die Alloimmunisierung sowohl zu einer beschleunigten Abstoßung als auch zu einem verlängerten Transplantatüberleben führen kann. Die genauen Bedingungen, unter denen es zur Immunität oder zur Suppression kommt, sind nicht bekannt. Unvollständig geklärt sind auch die Mechanismen der Suppression. So bleibt die Immunisierung mit Spenderantigenen trotz ihres positiven Potentials für die klinische Transplantation ein zweischneidiges Schwert.

2. ANTIKÖRPER-BEDECKTE SPENDERANTIGENE: DER AUSWEG AUS DEM DILEMMA?

A. VERLÄNGERTES NIERENTRANSPLANTATÜBERLEBEN

Bei einer idealen Vorbehandlung des Transplantatempfängers mit Spenderantigenen sollte die Sensibilisierung verhindert und die suppressive Wirkung beibehalten werden. In unseren Versuchen wurden die Spenderantigene vor der Behandlung des Empfängers mit Antikörpern bedeckt. Wir gingen davon aus, daß das Immunsystem des Empfängers die maskierten Antigene nicht „sehen" kann und es zu keiner Sensibilisierung kommt.

Die Wirkung von Anti-Spender Antikörpern auf das Transplantatüberleben wurde bereits in früheren Arbeiten untersucht. Kaliss und Molumut *(1952)* zeigten, daß passiv verabreichte Anti-Spender Antikörper das Tumorwachstum in der Maus fördern. Diese Experimente prägten den Begriff „passive enhancement". In weiteren Arbeiten wurde versucht, das Überleben

von Hauttransplantaten mit Alloantikörpern zu verlängern. Die Versuche blieben jedoch bis auf wenige Ausnahmen erfolglos. So verlor dieses Modell bald das Interesse der Kliniker. Die Entwicklung der mikrochirurgischen Techniken Ende der sechziger Jahre ermöglichte es, Transplantationen vaskularisierter Organe in der Ratte durchzuführen. So war es möglich, die Anwendung des „passive enhancement" zur Verlängerung des Transplantatüberlebens erneut zu untersuchen. Stuart et al. *(1968)* sowie French und Batchelor *(1969)* erzielten erstmals durch Verabreichung von Anti-Spender Antikörpern eine eindeutige Verlängerung des Nierentransplantatüberlebens in der Ratte. Anschließend wurde das „passive enhancement" in zahlreichen Nieren- oder Herztransplantations-Modellen studiert *(Übersicht bei Morris 1980)*. In den meisten Experimenten wurde der Spender-spezifische Antikörper zum Zeitpunkt der Transplantation oder kurz danach injiziert. Der Grund dafür, daß es zu keiner Schädigung des Transplantates kam, lag offensichtlich darin, daß diese Versuche in der Ratte durchgeführt wurden, einer Spezies, die eine relative Resistenz gegenüber Antikörper-vermittelten Transplantatschäden aufweist. Die Ursache dieser Resistenz ist möglicherweise eine verminderte Angriffskapazität des Komplements. Wird nämlich gleichzeitig mit dem Anti-Spender Antikörper Meerschweinchen-Komplement verabreicht, kommt es zur sofortigen Zerstörung des Nierentransplantates *(French 1972)*. Sehr große Antikörpermengen können selbst in der Ratte zu einer beschleunigten Abstoßung führen *(Fabre und Morris 1973)*. Wie bereits erwähnt, verursachen Antikörper im Menschen eine hyperakute Abstossung *(Patel und Terasaki 1969)*. Deswegen war es in der klinischen Organtransplantation nicht möglich, die Wirkung von Anti-Spender Antikörpern auf das Transplantatüberleben zu untersuchen. In alternativen Ansätzen hat man versucht, F (ab')2 Fragmente einzusetzen. Da diese Fragmente kein Komplement aktivieren, sollte die Transplantat-schädigende Wirkung intakter Antikörper vermieden werden. Diese Behandlung hat jedoch nicht die erhofften Ergebnisse gebracht *(French und Batchelor 1972; Holter et al. 1973; Winearls et al. 1979)*. Die Fc-Region des IgG scheint für die immunsuppressive Wirkung ausschlaggebend zu sein *(Sinclair 1979; Capel et al. 1979)*.

In unseren Versuchen wurden nur Antigen-gebundene (keine freien!) Antikörper verabreicht. Wir wählten ein streng inkompatibles Spender-Empfänger Rattensystem (BN→LEW). Vor der Transplantation wurde der Empfänger 3x in wöchentlichen Abständen mit Antikörper-bedeckten Spender-Blutzellen behandelt (Abb. 42). Die Beschichtung der Zellen erfolgte mit einem Empfänger-anti-Spender (LEW-anti-BN) Antikörper. Dieser Antikörper wurde durch wiederholte Immunisierung (i.v.) der LEW Ratten mit BN Blut hergestellt. Er war sowohl gegen MHC Klasse I als auch gegen Klasse II Antigene gerichtet. Der Anti-Spender Antikörper bedeckte genau jene Determinanten, die üblicherweise von den Empfänger-

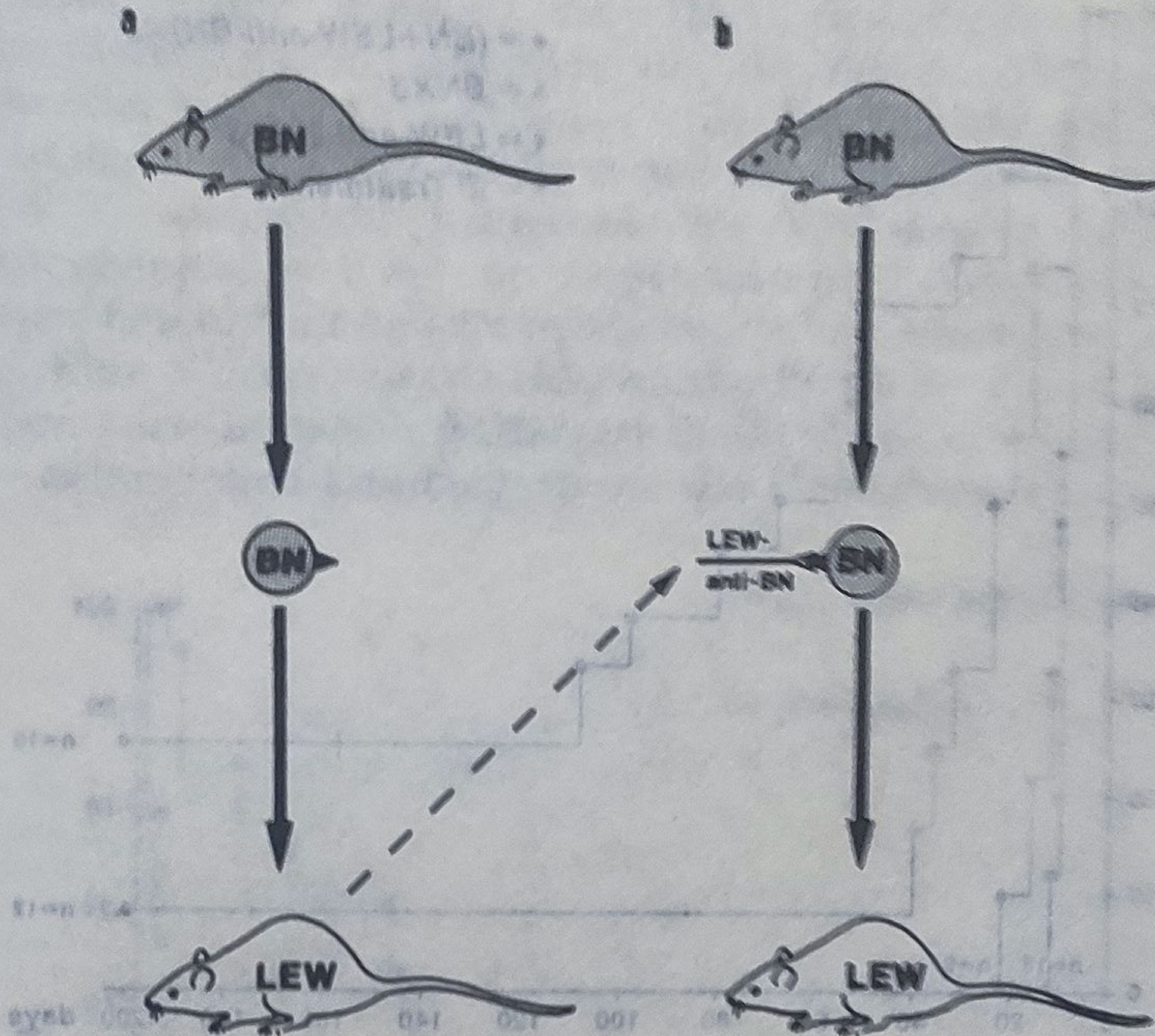


Abb. 42 Immunisierung mit Antikörper-bedeckten Zellen. (a) LEW Ratten bekamen am Tag 0,7 und 12 jeweils 1 ml BN Blut (i.v.). Drei Tage später wurde das Serum der Empfänger (mit hohem Anti-BN Antikörpertiter) gesammelt. (b) BN Blut (1 ml) wurde mit 0,05 ml LEW-anti-BN Serum 30 Min. bei 22 °C inkubiert. Die Blutzellen wurden 3x gewaschen und in 1 ml PBS resuspendiert. LEW Ratten wurden 3x in wöchentlichen Abständen mit 1 ml Antikörper-bedeckten BN Zellen immunisiert

lymphozyten erkannt werden. Um sicherzustellen, daß kein ungebundener Antikörper in den Empfänger injiziert wird, wurden die Zellen nach der Beschichtung gründlich gewaschen. Selbst wenn man von der unwahrscheinlichen Annahme ausgeht, daß sich die gesamten Antikörper von den beschichteten Zellen loslösen würden, wäre bei der verwendeten Antikörpermenge von 0,05 ml bereits 1 Tag nach der Immunisierung mit keiner Anti-Spender Aktivität mehr im Serum des Empfängers zu rechnen *(Terness und Opelz 1985 a)*. Die Nierentransplantation erfolgte 7 Tage nach der Immunisierung. Der Empfänger wurde bilateral nephrektomiert und bekam keine Immunsuppressiva *(Schiffl, Terness und Opelz 1985; Terness et al. 1988)*. Das Ergebnis dieses Versuches ist in Abb. 43. dargestellt.

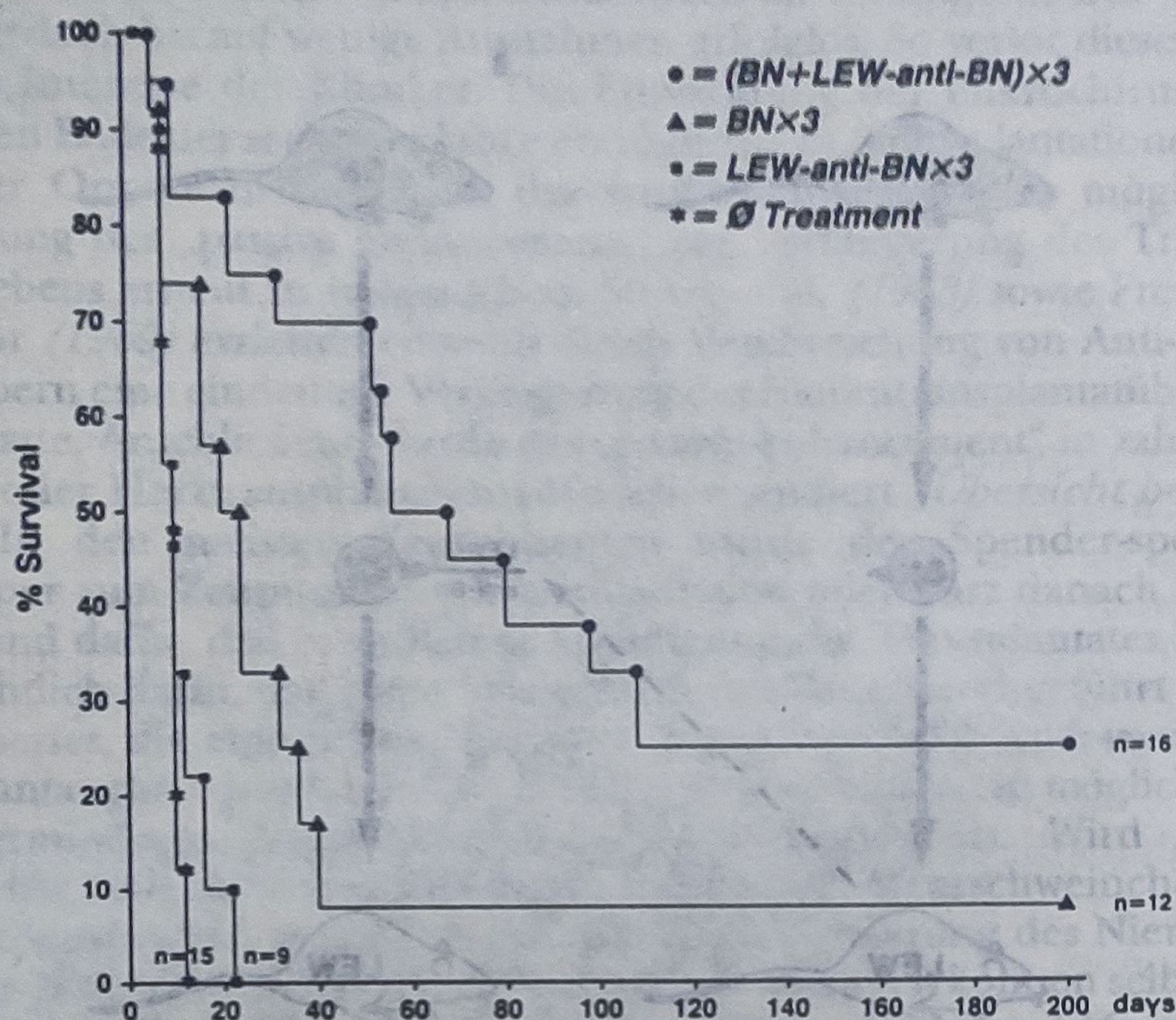


Abb. 43 Nierentransplantatüberleben nach Behandlung mit (Empfänger-anti- Spender) Antikörper-bedeckten Spenderzellen. Eine Woche nach 3x Behandlung mit 1 ml Antikörper-bedeckten BN Blutzellen, 1 ml BN Blut oder 0,05 ml LEW-anti-BN Serum wurden die LEW Ratten bilateral nephrektomiert und mit einer BN Niere transplantiert. Die Tiere bekamen keine Immunsuppressiva. Die Überlebenszeit der Empfänger (Kaplan-Meier Kurven), die mit Antikörper-bedeckten Zellen immunisiert wurden, war signifikant länger (124 ± 36 Tage) als die der Empfänger, die Anti-Spender Serum (11 ± 1,7 Tage) ($P < 2\times10^{-3}$), Spenderblut (21 ± 3,6 Tage) ($P < 2\times10^{-2}$) oder keine Behandlung (8,4 ± 0,4 Tage) ($P < 10^{-1}$) bekamen.

Die unbehandelte Kontrollgruppe überlebte nach der Nierentransplantation 8,4 ± 0,4 Tage. Nach Immunisierung mit Antikörper-bedeckten Zellen kam es zu einer Überlebenszeit von 124 ± 36 Tagen. Drei der sechzehn Empfänger überlebten 310, 326 und 512 Tage. Die mit Anti-spender Antikörpern behandelten Kontrollen überlebten 11 ± 1,7 Tage und die mit Spenderblut-transfundierten Kontrollen 21 ± 3,6 Tage (ausgenommen ein Empfänger mit 454 Tagen). Die Schlußfolgerung dieses Experimentes ist eindeutig: die Immunisierung mit Antikörper-bedeckten Spenderzellen führt zu einer signifikanten Verlängerung des Nierentransplantatüberlebens.

Sollte die Methode in dieser Form beim Menschen angewendet werden, müßten analog zum Rattenmodell zur Beschichtung der Zellen Alloan-

tikörper (HLA Antikörper) verwendet werden. Es wäre jedoch schwierig, eine ausreichend große Menge von HLA Antikörpern bereitzustellen. Wünschenswert wäre ein Antikörper, der mit allen Spendern reagiert und in ausreichender Menge zur Verfügung steht. Ein Produkt, das diese Kriterien erfüllt, ist das in der Klinik häufig verwendete Antithymozyten Globulin. Im nächsten Versuchsansatz haben wir die Wirksamkeit eines Kaninchen Anti-Rattenlymphozyten Serums ausgetestet. BN Zellen wurden mit diesem Antikörper beschichtet und 3× in wöchentlichen Abständen in LEW Ratten injiziert. Eine Woche später bekamen die Empfänger eine BN Niere. Die Überlebenskurve ist in Abb. 44 dargestellt. Im Vergleich zu den (LEW-anti-BN + BN) – behandelten Empfängern war die Überlebenszeit der ALS Gruppe

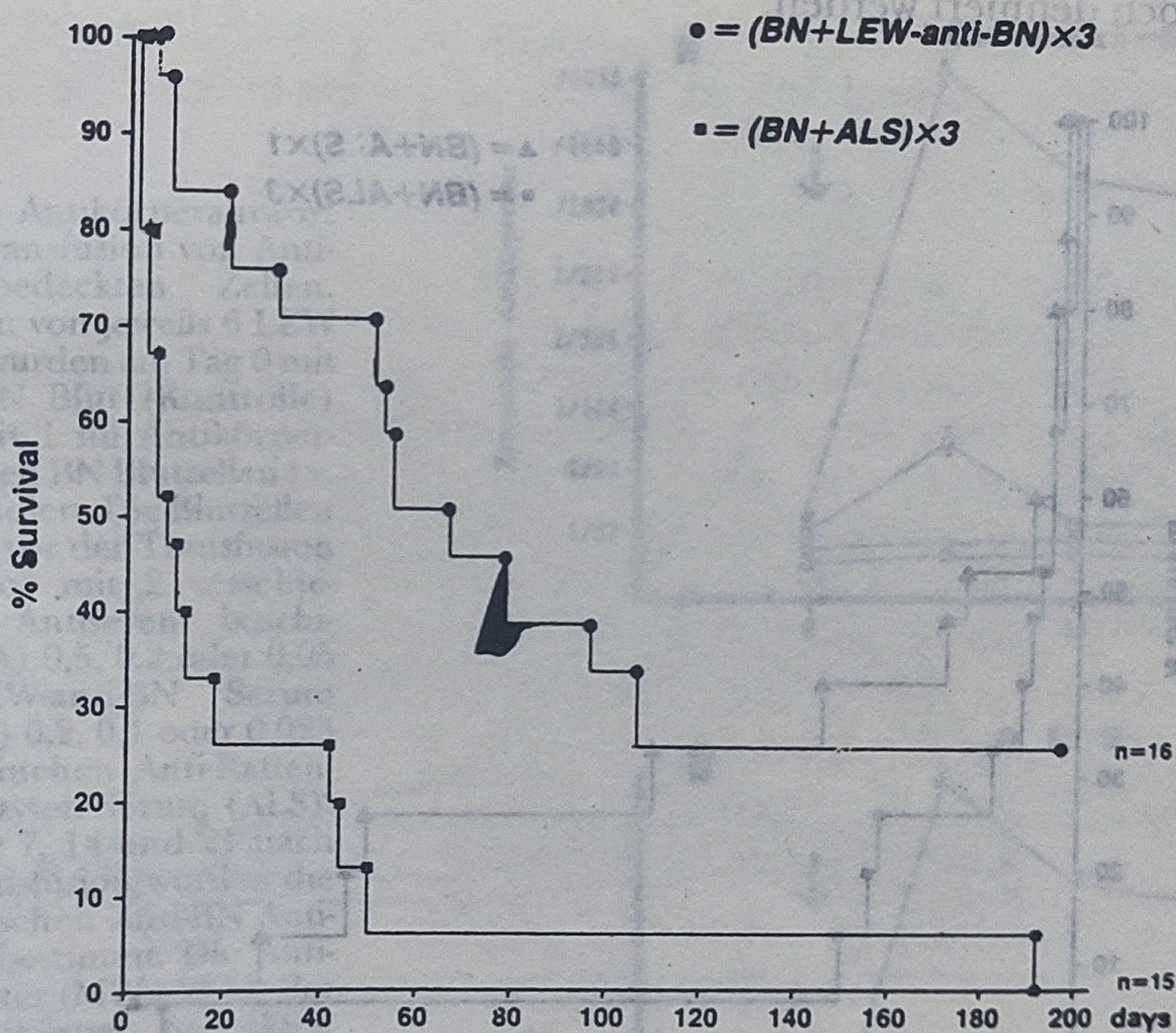


Abb. 44 Nierentransplantatüberleben nach dreimaliger Behandlung mit ALS-bedeckten Spenderzellen. BN Blut (1 ml) wurde 30 Min. bei 22 °C mit 0,025 ml ALS inkubiert und der Antikörperüberschuß ausgewaschen. LEW Ratten bekamen in wöchentlichen Abständen 3× jeweils 1 ml ALS-bedeckte BN Zellen. Eine Woche später wurden die Tiere bilateral nephrektomiert und mit einer BN Niere transplantiert. Sieben Empfänger entwickelten eine akute Abstoßung (3,6 ±0,7 Tage). Die verbleibenden 8 Tiere hatten eine Überlebenszeit von 47 ± 22 Tagen. Die Überlebenszeit war nach 3× Behandlung mit ALS-bedeckten Zellen kürzer als nach 3× Behandlung mit LEW-anti-BN-bedeckten Zellen (124 ± 36 Tage).

kürzer. Allerdings gab es zwei Untergruppen: 7 Empfänger entwickelten eine akute Abstoßung (3,6 ± 0,7 Tage) und 8 Empfänger hatten eine verlängerte Überlebenszeit (47 ± 22 Tage). In der kurzlebigen Gruppe entwickelten die Tiere fatale Infektionen. Wir hatten den Eindruck, daß die kürzere Überlebenszeit nicht auf einer geringeren Wirksamkeit, sondern auf einer zu starken Suppression beruhte. Um die immunsuppressive Wirkung zu mindern, transfundierten wir die Empfänger nur 1× mit ALS-bedeckten Spenderzellen. Auf diese Weise kam es tatsächlich zu einer Verlängerung der Überlebenszeit im Vergleich zur 3× transfundierten Gruppe (Abb. 45). Die Versuche wiesen insgesamt darauf hin, daß auch ALS zur Beschichtung der Zellen verwendet werden kann. Die genauen Bedingungen dieser Behandlung (Dosis, Anzahl der Transfusionen, Intervall vor der Transplantation etc.) müssen noch definiert werden.

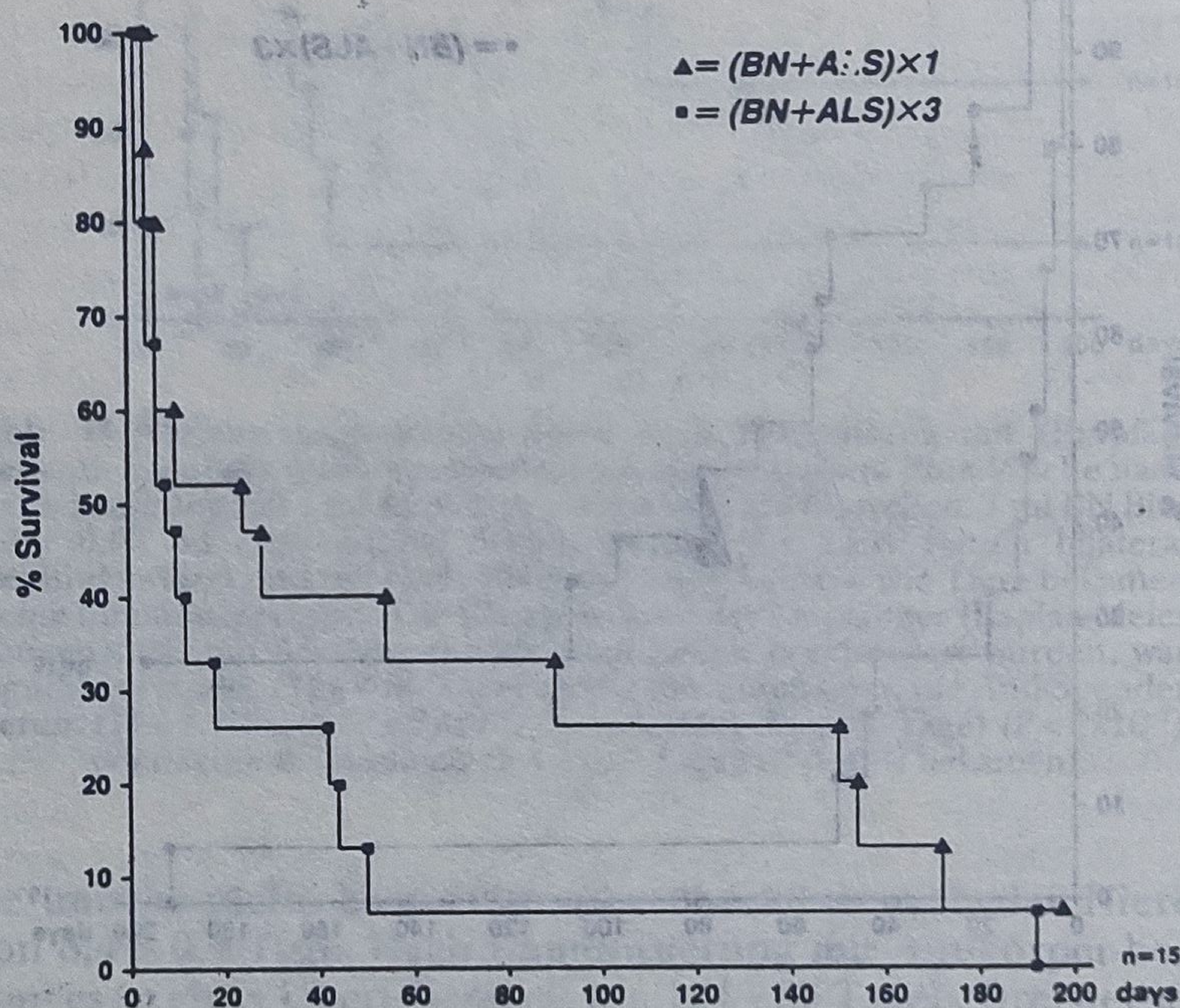


Abb. 45 Nierentransplantatüberleben nach einmaliger Behandlung mit ALS-bedeckten Spenderzellen. Eine Gruppe von 15 LEW Ratten wurde 1× mit 1 ml ALS-bedeckten BN Zellen behandelt und 1 Woche später nach bilateraler Nephrektomie mit einer BN Niere transplantiert. Sieben Empfänger hatten eine akute Abstoßung (4,7 ± 0,6 Tage) und 8 Empfänger eine verlängerte Überlebenszeit (130 ± 39 Tage). Die Überlebenszeit nach 1×Behandlung mit ALS-bedeckten Zellen war länger als nach 3× Behandlung (P = 0,05).

B. SUPPRIMIERTE ANTIKÖRPERANTWORT

Die vorherigen Experimente zeigten, daß die Immunisierung des Transplantatempfängers mit Antikörper-bedeckten Spenderzellen die Abstoßungsreaktion unterdrückt.

Welches ist der Mechanismus dieser Suppression?

Obwohl sich in der Ratte Anti-Spender Antikörper auf das Transplantat weniger schädlich als in anderen Spezies auswirken, können selbst in diesem Tier große Antikörpermengen akute Abstoßungen verursachen *(Fabre und*

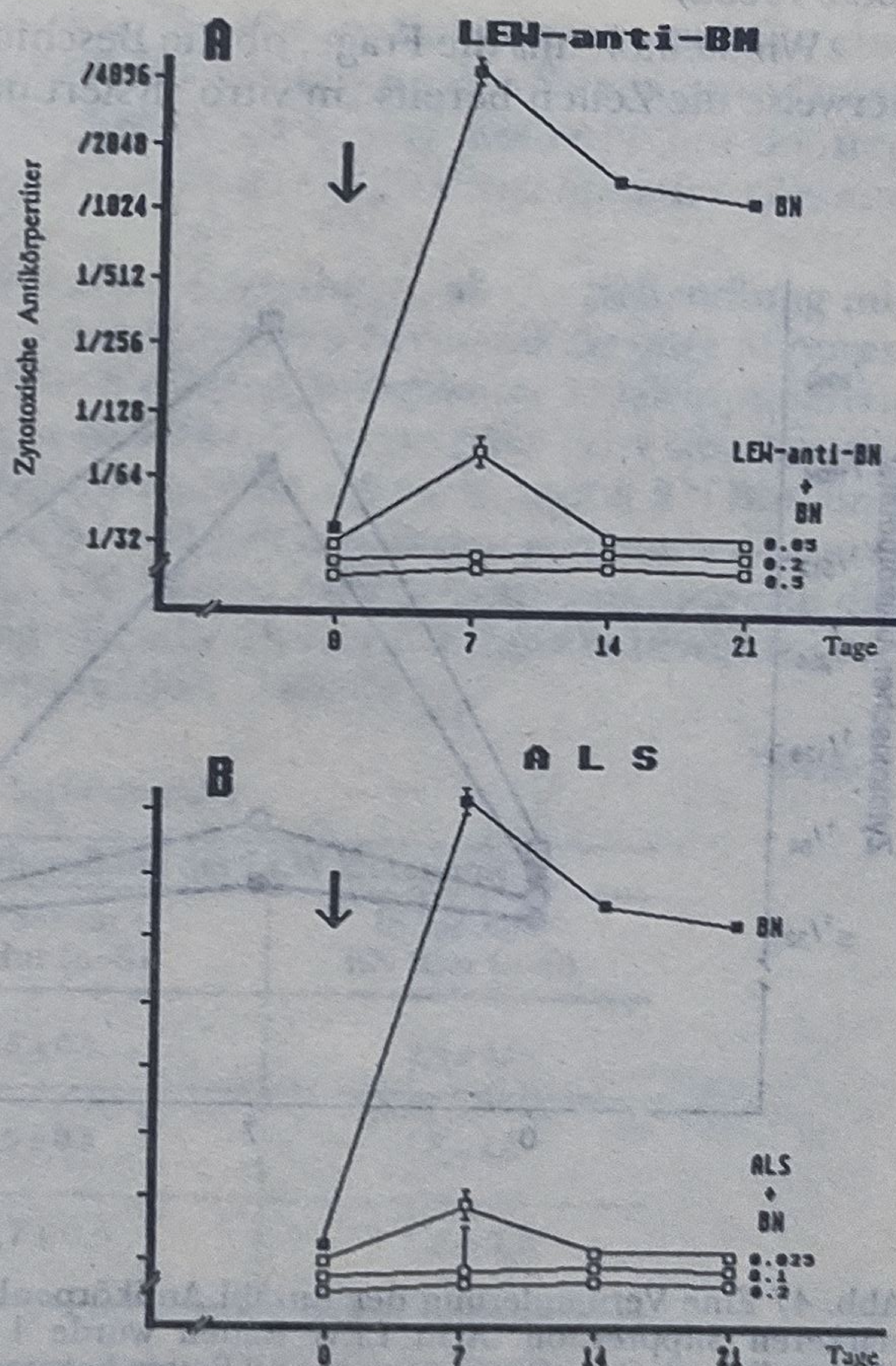


Abb. 46 Antikörperantwort nach Transfusion von Antikörper-bedeckten Zellen. Gruppen von jeweils 6 LEW Ratten wurden am Tag 0 mit 1 ml BN Blut (Kontrolle) oder mit 1 ml Antikörper-bedeckten BN Blutzellen i.v. transfundiert. Die Blutzellen wurden vor der Transfusion „in vitro" mit 2 verschiedenen Antiseren beschichtet: (A) 0,5, 0,2 oder 0,05 ml LEW-anti-BN Serum oder (B) 0,2, 0,1 oder 0,025 ml Kaninchen Anti-Rattenlymphozyten Serum (ALS). Am Tag 7, 14 und 21 nach der Transfusion wurden die zytotoxischen Anti-BN Antikörper bestimmt. Die Antikörpertiter (MW ± SEM) der mit Antikörper- bedeckten Zellen behandelten Tiere und der Kontrollgruppe wurden miteinander verglichen (für jede Gruppe $< 2 \times 10^{-4}$).

Morris 1973). Deswegen war es sinnvoll, die humorale Immunantwort nach Transfusion von Antikörper-bedeckten Zellen zu untersuchen.

Transfundiert man eine LEW Ratte mit BN Blut, kommt es zu einer starken Anti-BN Antikörperantwort. Werden die Zellen jedoch vor der Transfusion mit Antikörpern beschichtet, gibt es einen fast vollständigen Ausfall der humoralen Immunantwort (Abb. 46 A,B.) Die Antikörpermenge, die zur Beschichtung der Zellen verwendet wurde, war für das Ausmaß der Suppression ausschlaggebend. In dem getesteten Bereich wurde bei höheren Antikörpermengen eine stärkere Suppression erzielt. Reduzierten wir jedoch die Menge der injizierten Blutzellen (von 1 ml auf 0,1 ml Blut), kam es zu keiner zusätzlichen Abnahme des Antikörpertiters (Abb. 47) *(Terness und Opelz 1985a).*

Wir stellten uns die Frage, ob die Beschichtung mit Antikörpern möglicherweise die Zellen bereits „in vitro" lysiert und es auf diese Weise zu einer

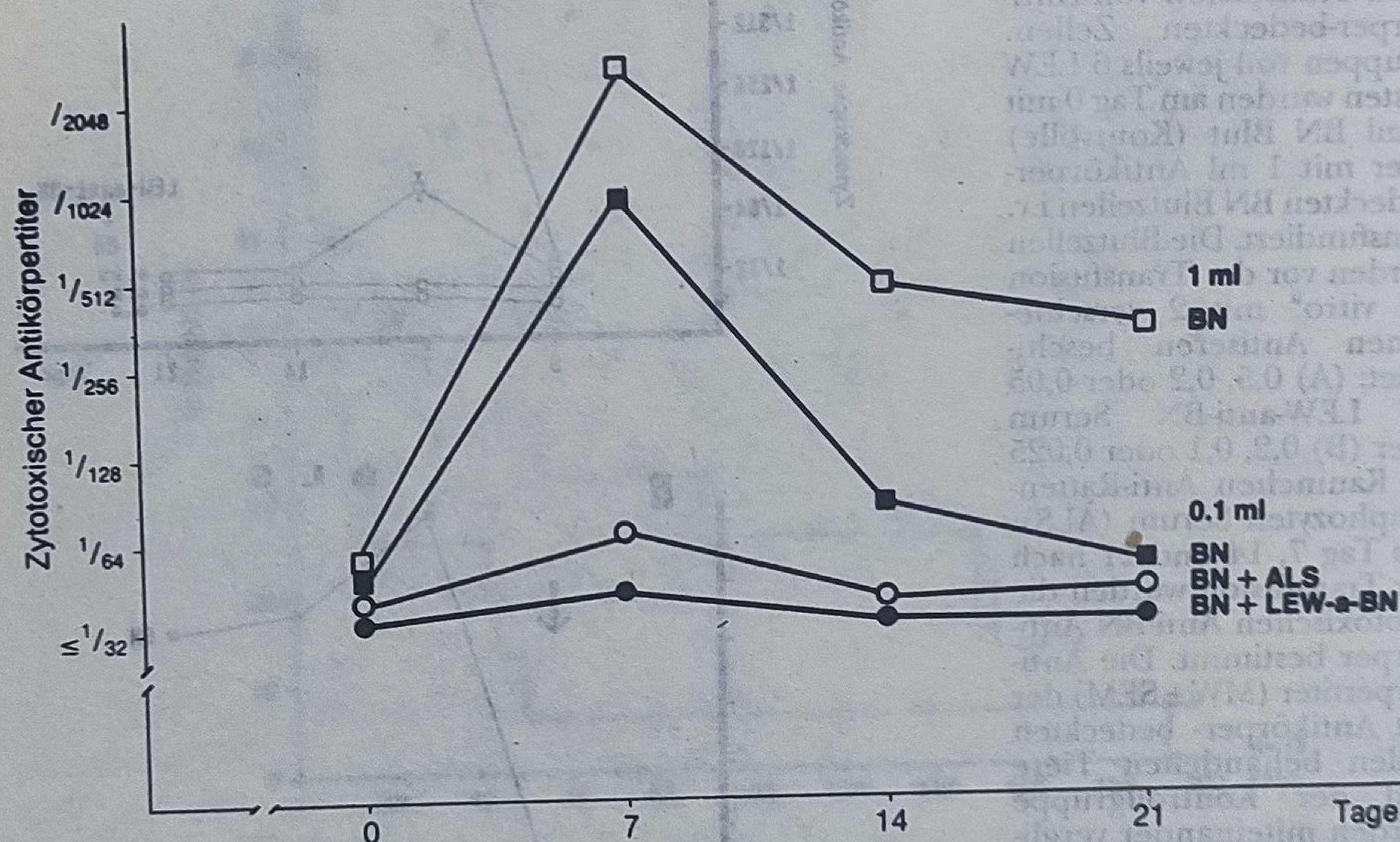


Abb. 47 Eine Verminderung der Anzahl Antikörper-bedeckter Blutzellen führt zu keiner stärkeren Suppression. Acht LEW Ratten wurde 1 ml oder 0,1 ml BN Blut injiziert (Kontrolltiere). Zwei Gruppen von je 12 Ratten bekamen jeweils 0,1 ml BN Blut, beschichtet mit 0,02 ml LEW-anti-BN Serum bzw. mit 0,01 ml ALS. Die zytotoxische Antikörperantwort war im Vergleich zu den Kontrollen signifikant geringer ($P < 0{,}01$), unterschied sich jedoch nicht von der Antwort der Empfänger, die mit 1 ml Antikörper-bedeckten Zellen transfundiert wurden.

Zerstörung der Spenderantigene kommt. In diesem Fall würde das Immunsystem des Spenders mit keinem Fremdantigen konfrontiert werden und es käme zu einem passiven Ausfall (keine aktive Suppression!) der Antikörperantwort. Um diese Möglichkeit zu überprüfen, haben wir BN Lymphozyten mit ALS oder LEW-anti-BN Serum inkubiert *(Terness und Opelz 1985a)*. Als Komplement-Quelle wurde ein „normales" LEW Serum verwendet. In keinem der Ansätze gab es mehr als 30% tote Zellen. Die Behandlung der Erythrozyten unter gleichen Bedingungen mit ALS oder LEW-anti-BN Serum verursachte auch keine Hämolyse. Diese Befunde unterstützen die Annahme, daß durch die Beschichtung mit Antikörpern die Spenderantigene nicht zerstört werden und es zu keinem passiven Ausfall der Antikörperantwort kommen kann.

Gegen einen einfachen Ausfall der Antikörperantwort und für eine *aktive* Suppression sprechen auch die Verlängerung des Nierentransplantatüberlebens und die Erhaltung der Suppression nach wiederholten Boostertransfusionen mit unbehandelten Blutzellen vom gleichen Spender *(Terness et al. 1985b)*.

Als nächstes sind wir der Frage nachgegangen, ob die Behandlung mit Antikörper-bedeckten Zellen einen suppressiven Serumfaktor oder Suppressorzellen induziert. Zu diesem Zweck wurden Serum oder Milzlymphozyten aus vorbehandelten LEW Ratten in unbehandelte, syngene Tiere übertragen. Die Empfängertiere bekamen gleichzeitig eine Transfusion mit BN Blut und die Antikörperantwort wurde in regelmäßigen Abständen gemessen *(Terness et al. 1987a; Terness et al. 1988)*. Das Serum (=IS Serum) supprimierte die Antikörperantwort fast vollständig (Tabelle 2). Der Zelltransfer bewirkte eine geringere, jedoch signifikante Suppression (Tabelle 3).

Tabelle 2

Serumtransfer

Tage nach Serum-transfer	Behandlung der LEW Ratten mit	
	LEW Serum + BN Blut (n=6)	IS Serum + BN Blut (n=6)
7	10,5 ± 0,5	2,3 ± 1,9
14	9,5 ± 0,5	0,7 ± 1,6
21	8,7 ± 0,5	1,2 ± 1,8

LEW Serum wurde von unbehandelten und IS Serum von behandelten (BN Zellen + LEW-anti-BN Serum) LEW Ratten gewonnen. Syngene Empfänger bekamen 1 ml BN Blut + 1 ml LEW- oder IS-Serum. Die zytotoxische Anti-BN Antikörperantwort (MW ± SD) war in der IS-Serum Gruppe signifikant geringer als in der LEW-Serum Gruppe ($P < 10^{-3}$).

Tabelle 3

Zelltransfer

Tage nach Zelltransfer	Behandlung der LEW Ratten mit		
	0+BN Blut	(BN+Anti-BN)+ BN Blut	(BN+ALS)+ BN Blut
7	10,1 ± 0,6	7,7 ± 0,5	8 ± 0,5
14	8,7 ± 1	5,8 ± 1,1	6,1 ± 0,6
21	6,6 ± 1	1 ± 2,2	4,2 ± 2,1

LEW Ratten wurden 3× in wöchentlichen Abständen mit Antikörper-bedeckten BN Zellen (BN + LEW-anti-BN Serum oder BN + ALS) behandelt. Eine Woche später wurden 5×10^7 Milzzellen der vorbehandelten Tiere in syngene Empfänger (i.v.) (3× in dreitägigen Abständen) injiziert. Kontrolltiere bekamen keine Zellen. Nach einer Woche wurden die Empfänger mit 1 ml BN Blut transfundiert. Die zytotoxische Anti-BN Antikörperantwort (MW ± SD) war in der Zelltransfergruppe signifikant geringer als in der Kontrollgruppe ($P < 0{,}01$).

Ist der suppressive Serumfaktor ein antiidiotypischer Antikörper? Wenn dem so wäre, müßte sich die suppressive Wirkung auf die Anti-BN Antwort beschränken. Weitere Untersuchungen zeigten jedoch, daß sich die Wirkung auch auf Drittspender erstreckt *(Terness et al. 1987b)*. Die Rolle suppressiver Faktoren in diesem Modell wird später diskutiert.

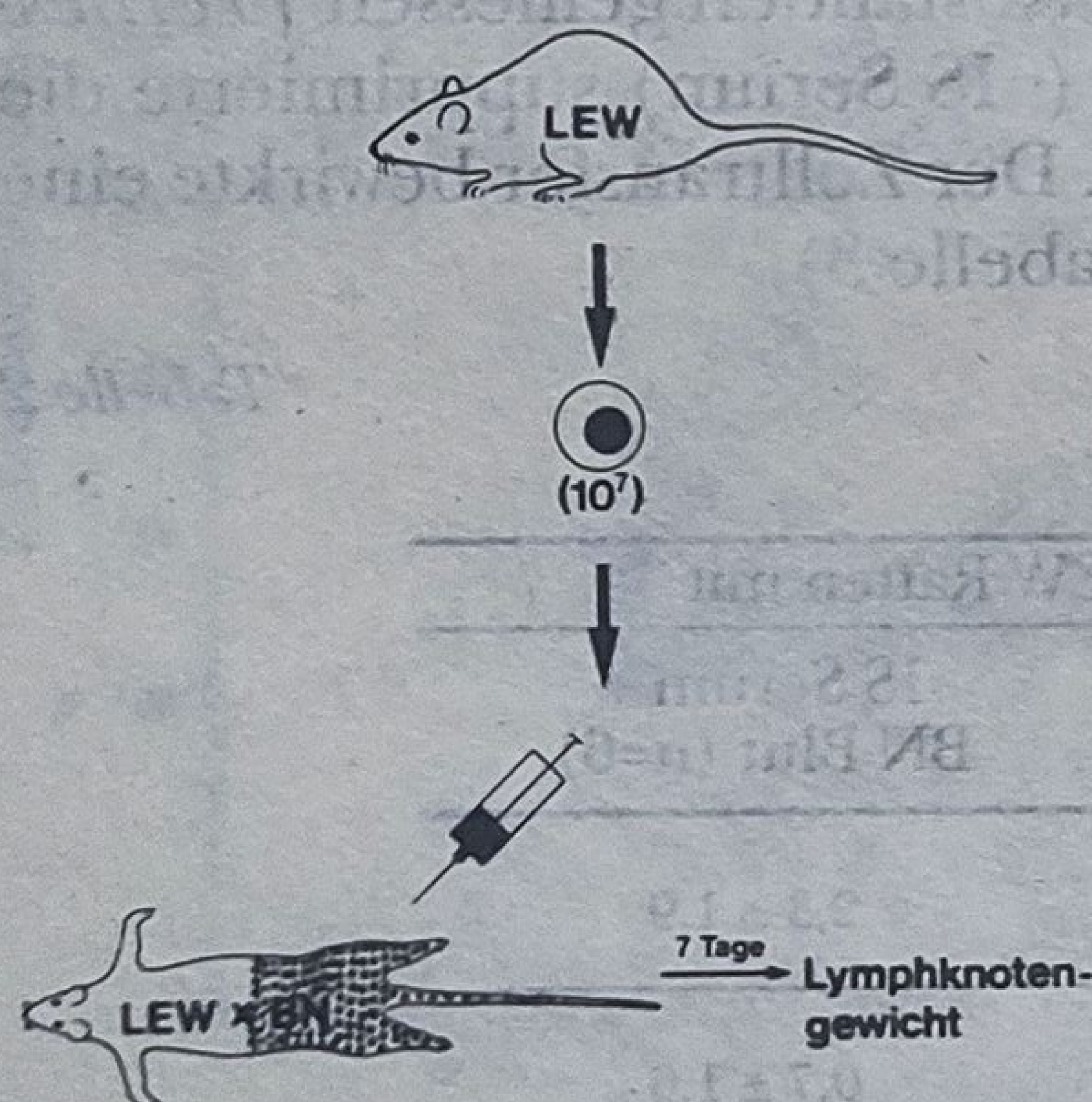


Abb. 48. Graft-versus-Host Assay (Prinzip).LEW Milzzellen (10^7) wurden subkutan in die hinteren Pfoten einer (LEW×BN)F1 Ratte injiziert. Eine Woche später wurde das Gewicht der poplitealen Lymphknoten der Empfängerratte bestimmt.

C. SUPPRIMIERTE T-ZELLANTWORT

Die T-Zellantwort spielt in der Abstosungreaktion eine entscheidende Rolle. In den nächsten Experimenten wurde die Auswirkung der Behandlung mit Antikörper-bedeckten Zellen auf die T-Zellantwort untersucht.

Zur Bestimmung der Proliferation von T-Zellen haben wir einen „Graft-versus-Host" Assay verwendet (Abb. 10). LEW Lymphozyten wurden in die Pfoten einer hybriden (LEW×BN)F1 Ratte injiziert.

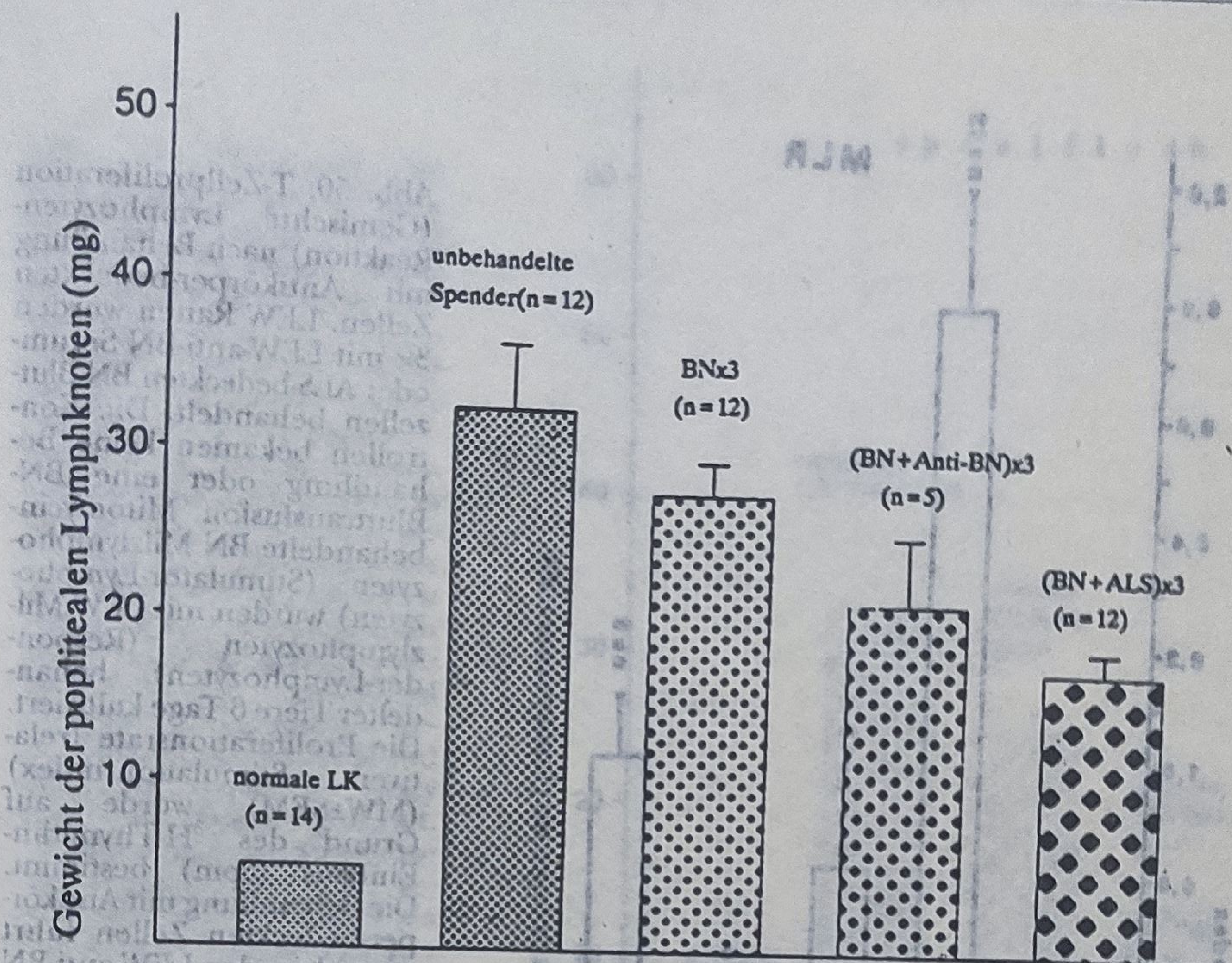


Abb. 49 T-Zellproliferation (Graft-versus-Host Assay) nach Behandlung mit Antikörper-bedeckten Zellen. LEW Ratten wurden 3× mit 1 ml unbehandelten oder Antikörper-bedeckten BN Blutzellen (LEW-anti-BN Serum oder ALS) immunisiert. Nach einer Woche wurden Milzzellen präpariert und in (LEW × BN) F1 Ratten auf Proliferation im Graft-versus-Host Assay getestet. Sowohl in der ALS-Gruppe ($P < 10^{-1}$), als auch in der LEW-anti-BN-Gruppe ($P < 0{,}05$) kam es zu einer starken Suppression. Die BN Transfusion führte zu keiner signifikanten Suppression.

Die Zellen wanderten in die regionalen Lymphknoten und wurden von den BN-Antigenen des Empfängers zur Proliferation angeregt. Die Empfängerlymphozyten reagierten nicht gegen die injizierten LEW Lymphozyten, da sie selbst LEW-Antigene besaßen. Es kam so zu einer einseitigen Proliferation. Die Gewichtszunahme der Lymphknoten korrelierte mit der Stärke der Proliferation.

T-Zellen von LEW-Ratten, die mit Antikörper-bedeckten BN-Zellen behandelt wurden, hatten im GvH-Assay eine verminderte Reaktivität gegen BN Antigene *(Terness et al. 1988)*. Das galt sowohl für die LEW-anti-BN- als auch für die ALS-Gruppe (Abb. 49). Die Transfusion mit unbehandelten Spenderzellen (donorspezifische Bluttransfusion) verminderte nur gering-

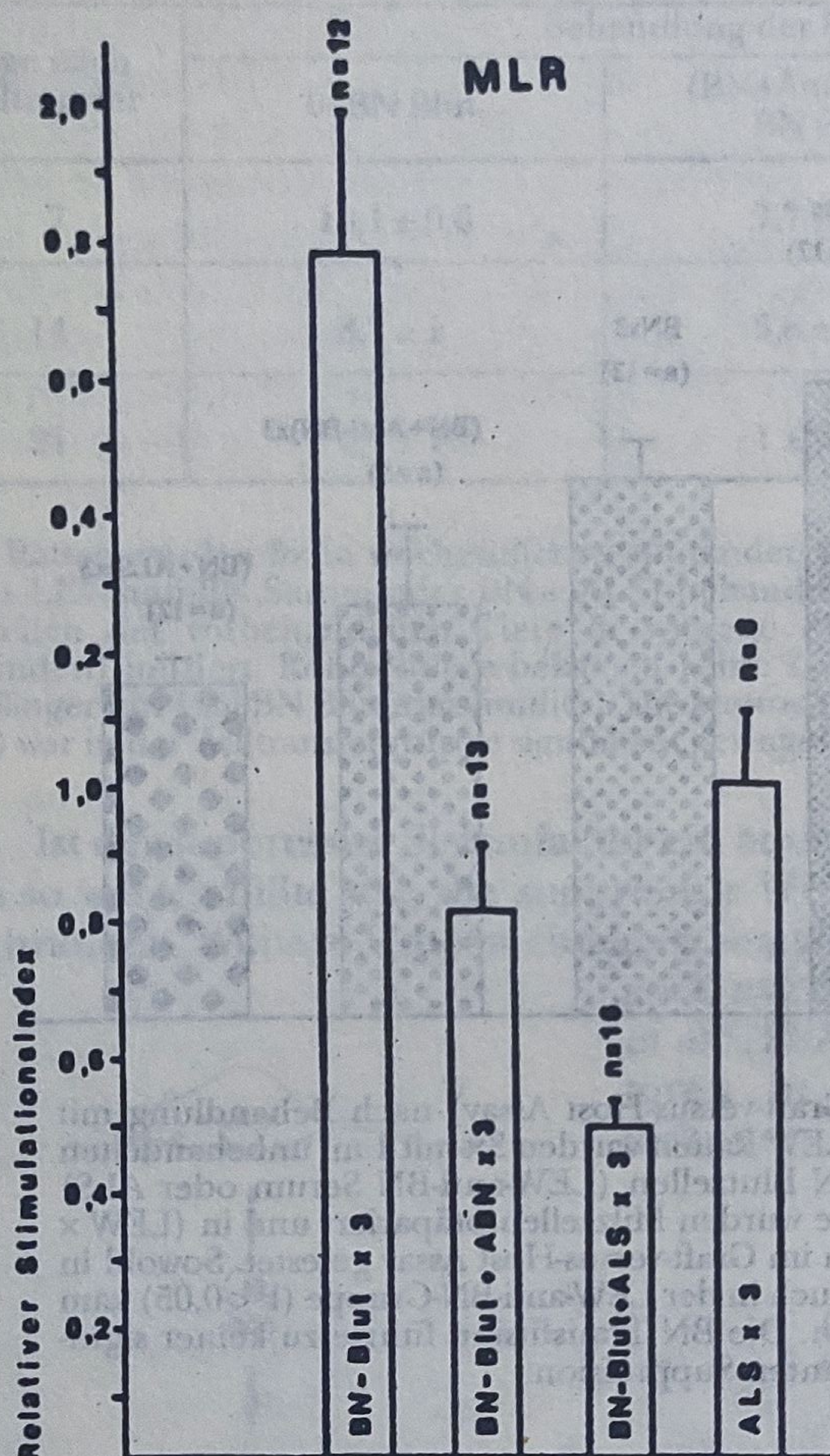
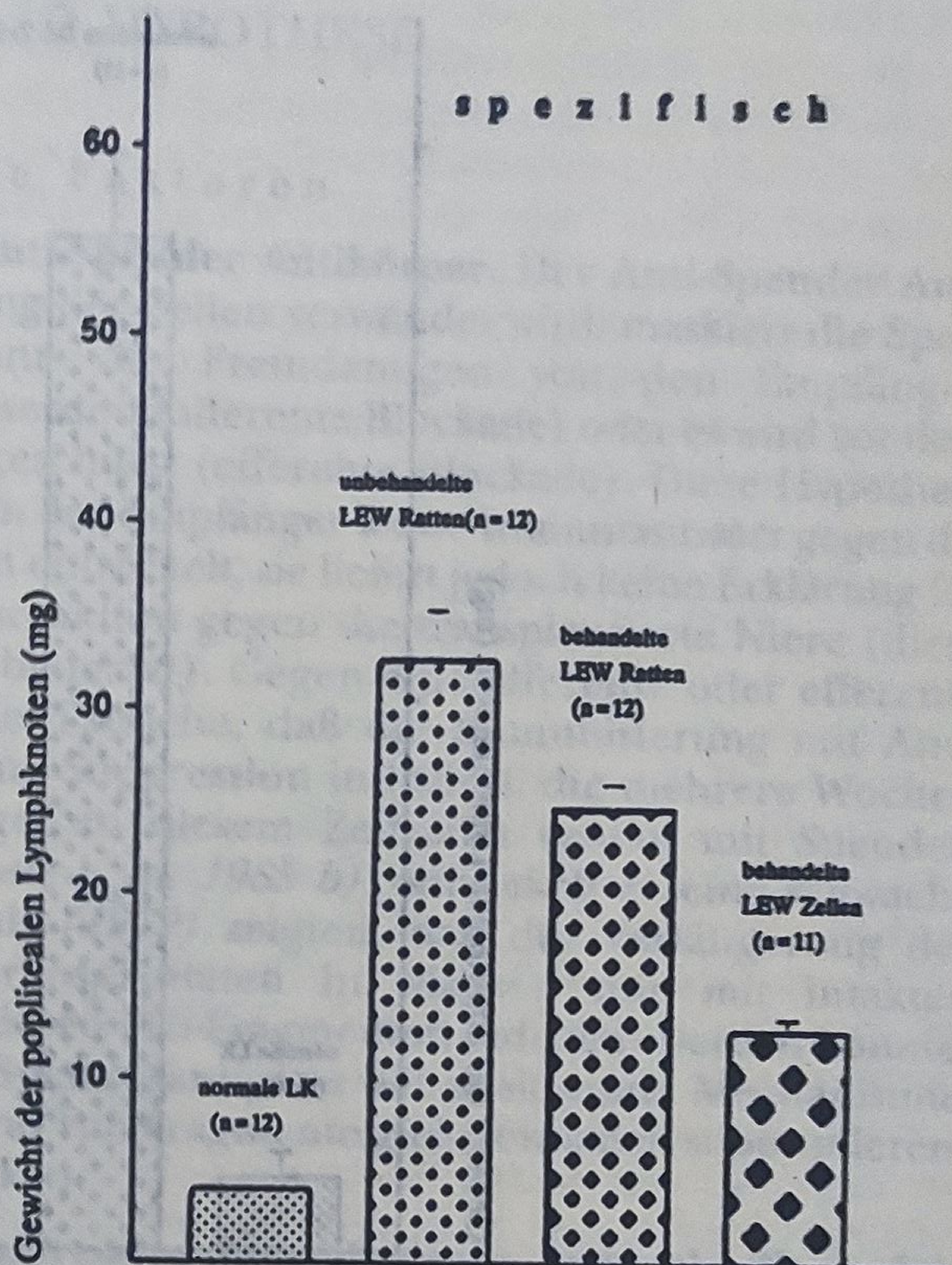


Abb. 50. T-Zellproliferation (Gemischte Lymphozyten-Reaktion) nach Behandlung mit Antikörper-bedeckten Zellen. LEW Ratten wurden 3× mit LEW-anti-BN Serum- oder ALS-bedeckten BN Blutzellen behandelt. Die Kontrollen bekamen keine Behandlung oder eine BN-Bluttransfusion. Mitomycin-behandelte BN Milzlymphozyten (Stimulator-Lymphozyten) wurden mit LEW Milzlymphozyten (Responder-Lymphozyten) behandelter Tiere 6 Tage kultiviert. Die Proliferationsrate (relativer Stimulationsindex) (MW±SEM) wurde auf Grund des ^{3}H-Thymidin-Einbaus (cpm) bestimmt. Die Behandlung mit Antikörper-bedeckten Zellen führt sowohl in der LEW-anti-BN Gruppe ($P<9\times 10^{-4}$) als auch in der ALS Gruppe ($P< 5\times 10^{-5}$), zu einer signifikanten Suppression der T-Zellproliferation im Vergleich zur BN-Blut-transfundierten Gruppe.

fügig die T-Zellproliferation. Die Ergebnisse „in vivo" konnten zum Teil in Zellkulturen reproduziert werden. Lymphozyten behandelter LEW-Ratten wurden in einer gemischten Lymphozytenkultur auf Proliferation gegen BN Zellen untersucht (Abb. 50). Nach Behandlung mit Antikörper-bedeckten Zellen kam es zu einer verminderten T-Zellreaktivität. Im Gegensatz zu den Befunden „in vivo" war bei der mit Spenderblut transfundierten Gruppe die T-Zellproliferation erhöht.

Für die verminderte T-Zellreaktion gibt es zwei Erklärungen:
– die Spender-spezifischen T-Zellen wurden deletiert oder/und

Abb. 51. Hemmung der Spender-spezifischen T-Zellproliferation mit IS Serum. LEW Ratten wurde am Tag 0, 4 und 7 jeweils 1 ml IS Serum injiziert. Kontrolltiere bekamen keine Behandlung. Eine Woche später wurde die T-Zellproliferation der Tiere über einen Graft-versus-Host Assay in (LEW×BN) F1 Ratten bestimmt. In einem anderen Versuch wurden Milzzellen (5×10^7) von unbehandelten LEW Ratten zweimal jeweils 90 Min. bei 22 °C mit 0,5 ml IS Serum inkubiert, gewaschen und anschließend im Graft-versus-Host Assay auf Proliferation getestet. Das IS Serum supprimierte die T-Zellproliferation sowohl „in vivo" ($P < 0{,}02$) als auch „in vitro" ($P < 10^{-4}$).



– die Spender-spezifischen T-Zellen wurden durch einen suppressiven Faktor oder durch Suppressorzellen inaktiviert.

Die im vorigen Abschnitt präsentierten Experimente zeigten, daß das IS Serum die humorale Immunantwort supprimiert. In den nächsten Untersuchungen sollte geklärt werden, ob das IS Serum auch T- Zellen hemmt. Zwei Versuchsanordnungen wurden dafür gewählt:

– das IS Serum wurde in unbehandelte LEW Ratten injiziert;

– LEW-Lymphozyten wurden „in vitro" mit dem IS Serum inkubiert.

In beiden Experimenten ist anschließend in einem GvH Assay die T-Zellreaktion gegen BN-Antigene bestimmt worden *(Süsal, Terness et al. 1987)*. Abbildung 51 zeigt, daß das IS Serum die T-Zellproliferation sowohl „in vitro" als auch „in vivo" hemmt *(Terness et al. 1988)*.

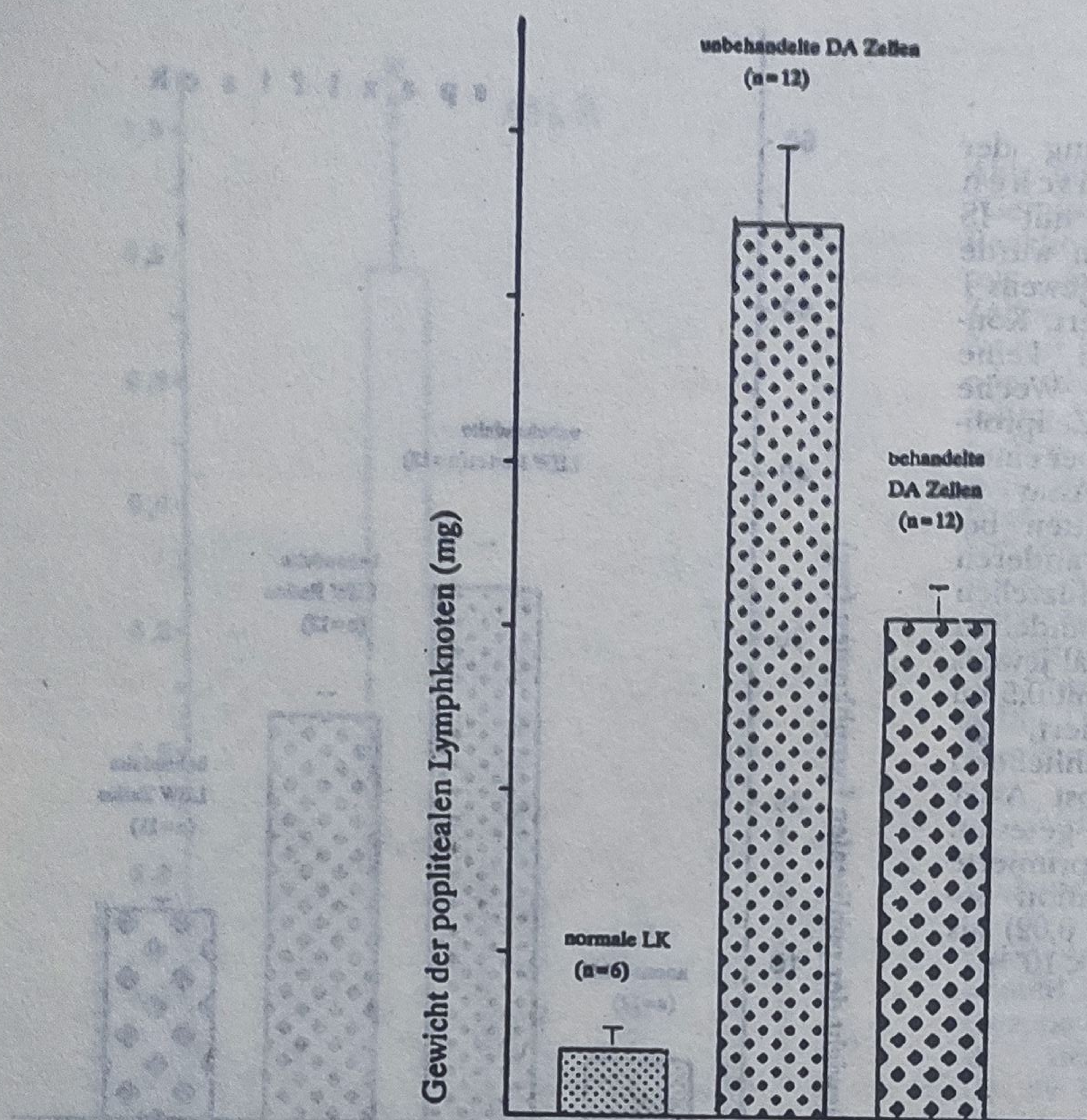


Abb. 52. Hemmung der T-Zellproliferation gegenüber Drittspendern mit IS Serum. DA Milzzellen (5×10^7) wurden „in vitro" mit 0,5 ml IS Serum inkubiert (90 Min. bei 22 °C) und anschließend in (DA×AO)F1 Empfängern auf Proliferation in einem Graft-versus-Host Assay getestet. Unbehandelte DA Zellen hatten eine signifikant höhere Proliferation als IS Serum-behandelte Lymphozyten ($P<7\times10^{-4}$).

Es stellte sich nun die Frage, ob die suppressive Wirkung des IS Serums nur die Reaktion gegen BN-Antigene oder auch gegen Drittspender betrifft. DA-Lymphozyten wurden mit IS Serum inkubiert und die Proliferation gegen AO Antigene wurde gemessen. Die Ergebnisse zeigten (Abb. 52), daß es auch hier zu einer signifikanten Suppression kam. Folglich enthält das IS Serum einen Spender-unspezifischen T-Zell supprimierenden Faktor *(Terness et al. 1990)*.

D. HYPOTHESE

(a) Blockierende Faktoren

Blockierung durch Anti-Spender Antikörper. Der Anti-Spender Antikörper, der zur Beschichtung der Zellen verwendet wird, maskiert die Spenderantigene. Dadurch kann das Fremdantigen von den Empfängerlymphozyten nicht erkannt werden (afferente Blockade) oder es wird vor dem immunologischen Angriff geschützt (efferente Blockade). Diese Hypothese könnte zwar erklären, warum der Empfänger keine Immunantwort gegen die Antikörper-bedeckten Zellen entwickelt, sie liefert jedoch keine Erklärung für den Ausfall der Abstoßungsreaktion gegen die transplantierte Niere (diese war nicht mit Antikörpern bedeckt!). Gegen eine afferente oder efferente Blockade spricht ferner die Tatsache, daß die Immunisierung mit Antikörper-bedeckten Zellen eine Suppression induziert, die mehrere Wochen anhält. Wird der Empfänger in diesem Zeitraum erneut mit Spenderantigenen stimuliert *(Terness et al. 1985 b)*, entwickelt er eine schwache Immunantwort. Capel et al. *(1979)* zeigten, daß die Verlängerung der Überlebenszeit von Hauttransplantaten in Mäusen nur mit intakten Antikörpern nicht aber mit deren Fab-Fragmenten induziert werden konnte. Wenn die Maskierung der Spenderantigene der auslösende Mechanismus wäre, müßten intaktes IgG und Fab Fragmente gleichermaßen supprimieren, da beide die Antigene bedecken.

Blockierung durch suppressive Serumfaktoren (zentrale Blockade). Unsere Experimente zeigten in der Tat, daß das Serum immunisierter Tiere immunsuppressive Eigenschaften besitzt. Wir haben die Wirkung auf das Transplantatüberleben zwar nicht getestet, aber die Beobachtung, daß das Serum sowohl die Antikörper- als auch die T-Zellantwort supprimiert, unterstützt die Annahme, daß ein blockierender Faktor bei der Unterdrückung der Abstoßungsreaktion beteiligt ist. In einem ähnlichen Modell gelangte Stuart et al. *(1968)* zur Annahme, daß antiidiotypische Antikörper bei der Induktion der Suppression eine Rolle spielen. Da die suppressive Wirkung unseres Serums nicht Spender-spezifisch war, scheint es unwahrscheinlich, daß antiidiotypische Antikörper für den Effekt verantwortlich sind. Untersuchungen des Serumfaktors zeigten, daß die B-Zell-suppressive Aktivität in der IgG Fraktion liegt und durch einen breitreagierenden Anti-Immunglobulin Antikörper vermittelt wird. Im Gegensatz zu antiidiotypischen Antikörpern erkennt dieser Antikörper eine konstante Domäne des Immunglobulins und bindet an autologe B-Zellen. Es ist möglich, daß es gleichzeitig zur Bildung von Anti-T-Zell Autoantikörpern kommt *(Terness et al. 1990)*. Da bekanntlich Anti-B- und Anti-T-Zell Antikörper immunregulatorische Funktionen aus-

üben können *(Finkelman et al. 1980; Hollander 1982; Nakayama 1982)*, ist es denkbar, daß ähnliche Autoantikörper auch in unserem Modell eine Suppression bewirken. Die Induktion solcher Antikörper könnte über Immunkomplexe (Anti-Spender Antikörper+Spenderzellen) zustande kommen. Immunkomplexe führen unter bestimmten Bedingungen zu einer polyklonalen B-Zellaktivierung *(Morgan und Weigle 1983)*. So können auch jene Klone aktiviert werden, die Autoantikörper gegen B- und T-Zellen bilden.

Zu den suppressiven Serumfaktoren, die während einer Alloimmunisierung produziert werden und das Transplantatüberleben beeinflussen, gehören auch Fc-τ-Rezeptor blockierende Faktoren *(McLeod et al. 1982; Petranyi et al. 1988; Sandilands et al. 1990)*. Es wird angenommen, daß es sich hierbei um Antilymphozyten Antikörper der IgG Klasse *(McLeod et al. 1982)*, um IgG + IgG-bindende Faktoren (IBF) *(Sandilands et al. 1990)* oder um Antigen- Antikörper Komplexe+IBF *(Fridman et al. 1987)* handelt. In den verschiedenen Studien wurden Fc-Rezeptor-blockierende Faktoren mit unterschiedlichem Molekulargewicht und Wirkung auf die Immunantwort „in vitro" beschrieben. So zum Beispiel finden Sandilands et al. *(1990)* ein Makromolekül (19S), das B-Zellen, nicht aber T-Zellen supprimiert, während andere Gruppen *(McLeod et al. 1982)* über ein 7S Molekül und über Hemmung der T-Zellantwort *(Petranyi et al. 1988)* berichten. Übereinstimmend ist in allen Arbeiten die Fc-τ-Rezeptor-inhibierende Eigenschaft der Faktoren. Diese Faktoren können in unserem Modell nicht ausgeschlossen werden. Fest steht allerdings, daß nach der Immunisierung ein breitreagierender Anti-Immunglobulin Autoantikörper entsteht, der die B-Zellantwort hemmt *(Terness et al. 1992 a, b)*. Diese Hemmung wird über den Fc-τ-Rezeptor vermittelt. Es ist möglich, daß der Autoantikörper (IgG+anti-IgG)-Komplexe bildet, die den Fc-Rezeptor blockieren. Das schließt natürlich nicht aus, daß es gleichzeitig auch einen gegen den Fc-Rezeptor gerichteten, blockierenden Antikörper gibt.

Da das Serum in unseren Versuchen einen unspezifischen Inhibitionsfaktor enthielt, stand ferner zur Diskussion, ob es sich dabei nicht um suppressive Zytokine handelt *(Fleisher et al. 1981 + 1982; Miyama-Inaba et al. 1982; Pierce et al. 1981; Pisko et al. 1986)*. Die Untersuchungen zur Regulation der B-Zellantwort wurden mit einem chromatografisch gereinigten IgG Präparat durchgeführt. Stoffe, wie Lymphokine mit einem niedrigen Molekulargewicht, konnten durch Gelfiltration ausgeschlossen werden. Die Bedingungen, unter denen die T-Zellantwort untersucht wurde, erlaubten es allerdings nicht, eine Beteiligung suppressiver Zytokine auszuschliessen.

Zu den häufig untersuchten blockierenden Faktoren gehören auch die Immunkomplexe. Nach Beschichtung der Zellen mit Antikörpern entstehen Antigen-Antikörper Komplexe, die sich teilweise von der Zellmembran loslösen. Die Bindung solcher Komplexe an die Fc-Rezeptoren von Makro-

phagen und Lymphozyten könnte zu deren funktionellen Blockierung führen. Esparza et al. *(1983)* zeigten, daß Immunkomplexe die Makrophagen-vermittelte Zytotoxizität hemmen. Andere Arbeitsgruppen haben nachgewiesen, daß immobilisierte Immunkomplexe die Fc-Rezeptor-induzierte Phagozytose von Makrophagen *(Rabinovitch et al. 1975)* und die Concanavalin-A-induzierte Proliferation von Milzzellen *(Ryan et al. 1975)* inhibieren.

Immunkomplexe induzieren außerdem immunsuppressive Mediatoren. Nach Kontakt mit Immunkomplexen sezernieren Makrophagen Prostaglandine, Leukotriene und superoxyde Ionen *(Rouzer et al. 1982; Kasai et al. 1982)*. Darüber hinaus führen Immunkomplexe zur Komplementaktivierung. Aus diesem Prozeß resultieren Bruchstücke, die unter bestimmten Umständen sowohl T-Zellen *(Meuth et al. 1983)* als auch B-Zellen *(Tsokos et al. 1984; Melchers et al. 1985)* hemmen.

(b) Suppressorzellen

Die Übertragung von Milzlymphozyten behandelter Tiere in syngene Empfänger supprimierte die Immunantwort. Dieser Befund läßt auf Suppressorzellen schliessen. Eine Beobachtung, die für die Existenz langlebiger Suppressorzellen spricht, ist auch die relativ lange Persistenz (über 6 Wochen!) der Suppression nach Behandlung mit Antikörper-bedeckten Zellen *(Terness et al. 1985 b)*. In einem ähnlichen Versuchsansatz in der Ratte haben Lenhard et al. *(1985)* die Induktion von Suppressorzellen nachgewiesen. Der suppressive Effekt konnte sowohl mit ungetrennten Milzlymphozyten als auch mit gereinigten T_S-Zellen reproduziert werden *(Lenhard et al. 1987)*. Stuart et al. *(1976)* haben das Überleben einer allogenen Niere durch Transfer von Milzzellen immunsupprimierter Tiere verlängert. Die Suppression der Lymphozytenspender wurde, ähnlich wie in unserem Modell, durch Behandlung mit Anti-Spender Antikörpern induziert.

(c) Klonale Deletion

Obwohl feststeht, daß in unserem Modell sowohl Suppressorzellen als auch suppressive Serumfaktoren induziert werden, schließt dies die Beteiligung anderer Mechanismen nicht aus. In ähnlichen Tierversuchen wurde gezeigt, daß gleichzeitig eine klonale Deletion, Suppressorzellen und suppressive Faktoren entstehen können *(Eto et al. 1990)*.

Eine Erklärung dafür, wie in unserem Modell eine klonale Deletion induziert werden kann, liefert das von Hutchinson und Zola beschriebene Phänomen der „Antigen-Reactive Cell Opsonization" *(Übersicht bei Hutchinson 1980)*. Sowohl in syngenen als auch in allogenen oder xenogenen Tiermodellen konnte eine Opsonisierung der Anti-Spender Lymphozyten

nachgewiesen werden. In allen Versuchsaufstellungen bekam der Empfänger gleichzeitig mit den Spenderzellen einen Anti-Spender Antikörper. Die Makrophagen des Empfängers wurden durch die Antikörper-bedeckten Spenderzellen aktiviert und zerstörten nicht nur die Spenderzellen sondern auch die eigenen, gegen den Spender gerichteten Lymphozyten (Abb. 53). Die Folge war eine klonale Deletion.

(d) Transplantatanpassung (graft adaptation)

Überlebt ein fremdes Organ längere Zeit in einem Empfänger, kommt es zu Änderungen seiner Immunogenität. Batchelor hat die transplantierte Niere einer toleranten Ratte in einen unbehandelten, syngenen Empfänger eingepflanzt *(Batchelor et al. 1979)*. Der Empfänger entwickelte keine Immunantwort gegen die fremde Niere und das Transplantat überlebte lange Zeit. In dem ersten Empfänger wurden die Leukozyten der transplantierten Niere ausgeschwemmt. So bekam der zweite Empfänger ein Leukozyten-freies Fremdorgan. Da Leukozyten stark immunogen sind, nahm Batchelor an, daß das verlängerte Transplantatüberleben auf die Abwesenheit dieser Zellen

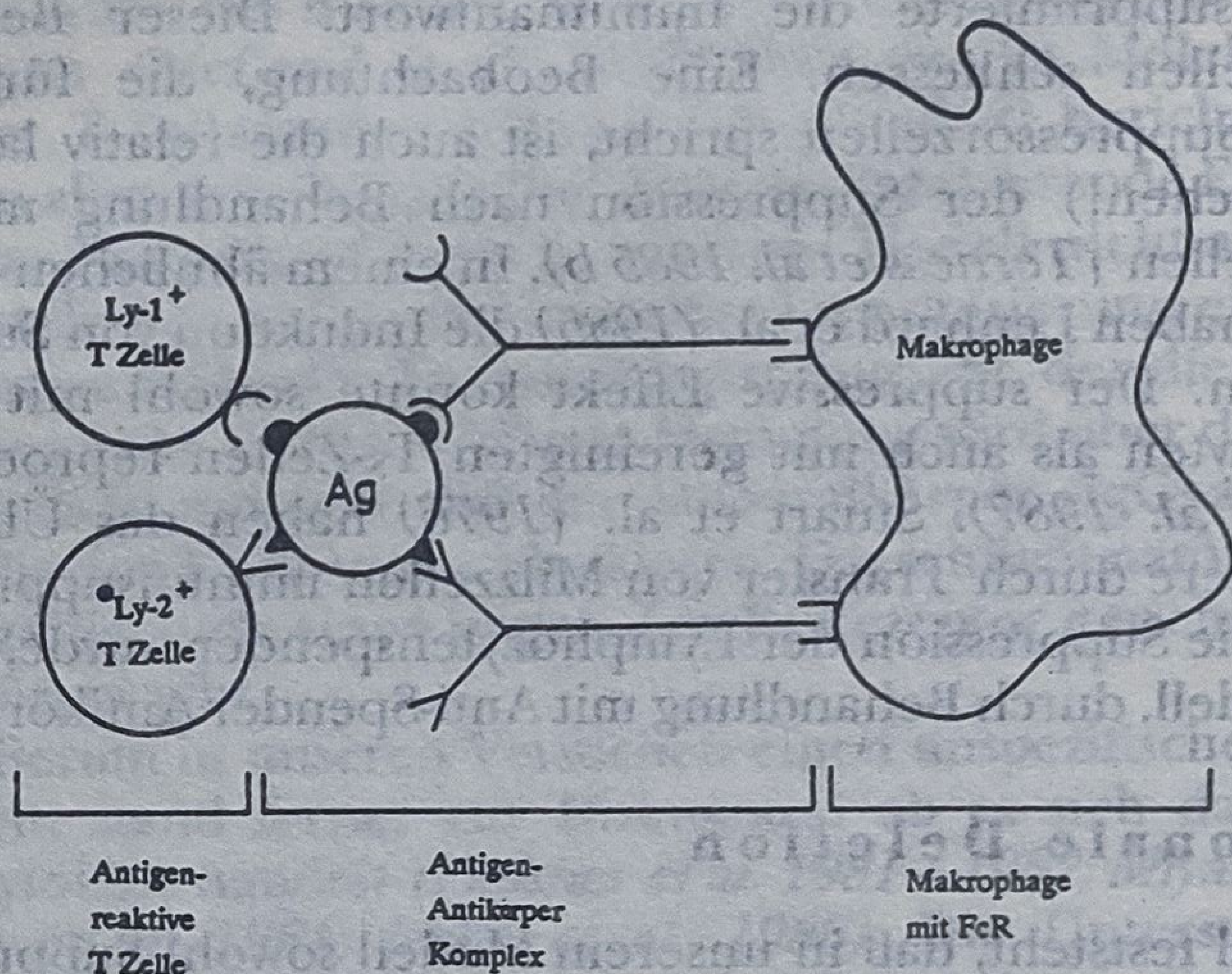


Abb. 53. Antigen Reactive Cell Opsonization (ARCO). Empfängerlymphozyten (Antigen-reaktive Zellen) binden an die freien Antigene der (Antikörper- besetzten) Spenderzellen. Die Fc Region der Antikörper, die die Spenderzellen besetzen, bindet an den Fc Rezeptor der Empfängermakrophagen und aktiviert diese. Die Spenderzellen und die daran gebundenen Anti-Spenderlymphozyten werden durch Phagozytose eliminiert.

zurückzuführen war. Natürlich kann es bei einem langlebigen Transplantat auch zu direkten Änderungen der immunogenen Struktur kommen.

In unserem Modell könnte die Anpassung beim langzeitigen Überleben des Transplantates eine Rolle spielen, sie liefert jedoch keine Erklärung für die Induktion der Suppression.

E. EIN MODELL ZUR VERLÄNGERUNG DES TRANSPLANTATÜBERLEBENS UND... DER VERGIFTETE PFEIL DES BRAHMANEN

In den letzten Jahrzehnten haben Studien vieler Arbeitsgruppen bewiesen, wie vielseitig die Mechanismen der Immunsuppression in den verschiedenen Toleranzmodellen sind. Auch an unserem Modell sind mehrere Mechanismen beteiligt. Es gibt eindeutige Beweise für einen unspezifisch suppressiven Serumfaktor und für die Beteiligung von Suppressorzellen. Darüber hinaus können weitere Mechanismen, wie klonale Deletion oder die Induktion suppressiver Zytokine, eine Rolle spielen.

Wir hatten uns vorgenommen, eine klinisch relevante Methode zur Verlängerung des Transplantatüberlebens zu entwickeln. In einem Rattenmodell ist es uns gelungen, durch einen einfachen Eingriff die Überlebenszeit eines stark inkompatiblen Nierentransplantates wesentlich zu verlängern. Unsere Methode unterscheidet sich von ähnlichen Aufstellungen *(Stuart et al. 1968; French und Batchelor 1969)* vor allem durch ihr Praxis-nahes Konzept. Wenn mit dieser einfachen Behandlungsmethode ein langzeitiges Transplantatüberleben bewirkt bzw. die immunsuppressive Therapie bei Patienten reduziert werden kann, wird das zwar kein Beitrag zur Klärung der Toleranzmechanismen, jedoch ein Schritt von großer praktischer Bedeutung sein. Für den Patienten ist ein verlängertes Transplantatüberleben mit unbekanntem Mechanismus wichtiger als ein bekannter Suppressionsmechanismus ohne therapeutische Anwendung.

Diese Sicht der Dinge wird durch folgende Geschichte aus dem östlichen Kulturgut veranschaulicht:

Eines Tages wurde ein Brahmane von einem giftigen Pfeil getroffen und sah sich sehr bald dem Tode gegenübergestellt. Die Verwandten holten eilends einen Arzt. Dieser weigerte sich aber den Pfeil herauszuziehen und Heilmittel auf die Wunde aufzutragen, bevor nicht drei *lebenswichtige* Fragen beantwortet würden:

Erstens, war der Mann, der auf den Verletzten geschossen hatte, ein Weißer oder ein Schwarzer?

Zweitens, war er groß oder klein?

Drittens, war er ein Brahmane oder ein Kastenloser?

Während die Ursachen des Angriffes geklärt wurden, starb der Verwundete an dem giftigen Pfeil.

Die Lehre aus dieser Geschichte sollte uns über die Unzufriedenheit hinweghelfen, ein praktisches Modell zur Verlängerung des Transplantatüberlebens aufgestellt, jedoch dessen Ursachen nicht vollständig geklärt zu haben.

LITERATUR

ABBAS A.K., BURAKOFF S.J., GEFTER M.L. and GREENE M.I. – *T lymphocyte-mediated suppression of myeloma function in vitro. III. Regulation of antibody production in hybrid myeloma cells by T lymphocytes.* J. Exp. Med. (1980) 152:969.

BALLANTYNE D.L., UHLSCHMID G.K. and CONVERSE J.M. – *Massive rabbit skin xenografts in rats.* Transplantation (1969) 7:274.

BATCHELOR J.R., WELSH K.I., MAYNARD A. and BURGOS H. – *Failure of long surviving, passively enhanced kidney allografts to prove T-dependent autoimmunity.* I. Retransplantation of (AS×AUG)F1 kidneys into secondary AS recipients. J. Exp. Med. (1979) 150:455.

BILLINGHAM R.E., BRENT L. and MEDAWAR P.B. – *Actively acquired tolerance of foreign cells.* Nature (1953) 172:603.

BRENT L., HANSEN J.A., KILSHAW P.J. and THOMAS A.V. – *Specific unresponsiveness to skin allografts in mice: I. Properties of tissue extracts and their synergistic effect with antilymphocytic serum.* Transplantation (1973) 15:160.

BRUNSON M.E. and ALEXANDER J.W. – *Mechanisms of transfusion-induced immunosuppression.* Transfusion (1988) 30:651.

CAPEL P.J.A., TAMBOER W.P.M., DE WAAL R.M.M., JANSEN J.L.J. and KOENE R.A.P. – *Passive enhancement of mouse skin allografts by alloantibodies is Fc dependent.* J. Immunol. (1979) 122:421.

COOPER M.D., KEARNEY J.F., GATHINGS W.E. and LAWTON A.R. – *Effects of anti-Ig antibodies on the development and differentiation of B cells.* Immunol. Rev. (1980) 52:29.

DORSCH S.E. and ROSER B.J. – *T cells mediate transplantation tolerance.* Nature (1975) 258:174.

DRESSER D.W. – *Specific inhibition of antibody production. II. Paralysis induced in adult mice by small quantities of protein antigen.* Immunology (1962) 5:378.

DUTTON R.W. – *Separate signals for the initiation of proliferation and differentiation in the B cell response to antigen.* Transpl. Rev. (1975) 23:66.

ES A.A. VAN, MARQUET R.C., ROOD J.J. VAN, KALFF M.W. and BALNER H. – *Blood transfusions induce prolonged kidney allograft survival in rhesus monkeys.* Lancet (1977) 1:506.

ESPARZA I., GREEN R. and SCHREIBER R.D. – *Inhibition of macrophage tumoricidal activity by immune complexes and altered erythrocytes.* J. Immunol. (1983) 131:2117.

ETO M., MAYUMI H., TOMITA Y., YOSHIKAI Y. et al. – *Sequential mechanisms of cyclophosphamide-induced skin allograft tolerance including the intrathymic clonal deletion followed by late breakdown of the clonal deletion.* J. Immunol. (1990) 145:1303.

FABRE J.W. and MORRIS P.J. – *Dose response studies in passive enhancement of rat renal allografts.* Transplantation (1973) 15:397.

FINKELMAN F.D., MOND J.J., WOODS V.L., WILBURN S.B., BERNING A., SEHGAL E. and SCHER E. – *Effects of anti-immunoglobulin antibodies on murine B lymphocytes and humoral immune responses.* Immunol. Rev. (1980) 52:55.

FLEISHER T.A., ATTALLAH A.M., TOSATO G., BLAESE R.M. and GREENE W.C. – *Interferon-mediated inhibition of human polyclonal immunoglobulin synthesis.* J. Immunol. (1982) 129:1099.

FLEISHER T.A., GREENE W.C., BLAESE R.M. and WALDMANN T.A. – *Soluble suppressor supernatants elaborated by concanavalin A-activated human mononuclear cells.* J. Immunol. (1981) 126:1192.

FLEXNER S. and JOBLING J.W. – *On the promoting influence of heated tumor emulsions on tumor growth.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1907) 4:156.

FRENCH M.E. – *The effects of alloantibody and complement on rat kidney grafts.* Transplantation (1972) 13:447.

FRENCH M.E. and BATCHELOR J.R. – *Immunological enhancement of rat kidney grafts.* Lancet (1969) 2:1103.

FRENCH M.E. and BATCHELOR J.R. – *Enhancement of renal allografts in rats and man.* Transplant. Rev. (1972) 13:115.

FRIDMAN W.H., TEILLAUD J.L., AMIGORENA S, DAERON M. et al. – *The isotypic circuit: immunoglobulins, Fc Receptors and immunoglobulin binding factors.* Int. Rev. Immunol. (1987) 2:221.

GERSHON R.K. and KONDO K. – *Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes.* Immunology (1970) 18:723.

GERSHON R.K. and KONDO K. – *Infectious immunological tolerance.* Immunology (1972) 21:903.

GILL R.G. and LAFFERTY K.J. – *Antigen, cytokines and the regulation of allograft response.* In: Progress in Immunology VII, F. Melchers et al. (Hrsg.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, (1989) S. 1163.

HALASZ N.A., ORLOFF M.J. and HIROSE F. – *Increased survival of renal homografts in dogs after injection of graft donor blood.* Transplantation (1964) 2:453.

HALL B.M. – *Mechanisms of specific unresponsiveness to allografts.* Transplant. Proc. (1984) 16:938.

HARDY M.A., TODD G. and REEMTSMA K. – *Xenotransplantation,* in Slavin S. (Hrsg.): *Bone marrow and organ transplantation,* Amsterdam, Elsevier, S. 515 (1984).

HASEK M., HRABA T. and HORT J. – *Acquired immunological tolerance of heterografts.* Nature (1959) 183:1199.

HOLLANDER N. – *Effects of anti-Lyt antibodies on T-cell functions.* Immunol. Rev. (1982) 68:43.

HOLTER A., NEU M.R., MC KEARN T.J., LYNCH A.F. and STUART F.P. – *Abrogation of hyperacute rejection of renal allografts by pepsin digested fragments of anti-donor antibody.* Transplant. Proc. (1973) 5:593.

HUTCHINSON I.V. – *Antigen-reactive cell opsonization (ARCO) and its role in antibody-mediated immune suppression.* Immunol. Rev. (1980) 49:167.

HUTCHINSON I.V. and ZOLA H. – *Antigen-reactive cell opsonization (ARCO). A mechanism of immunological enhancement.* Transplantation (1977) 23:464.

ILDSTAD S.T., BLUESTONE J.A. and SACHS D.H. – *Alloresistance to engraftment of allogeneic donor bone marrow is mediated by an Lyt-2 + T cell in mixed allogeneic reconstitution.* J. Exp. Med. (1986) 163:1343.

KALISS N. and MOLUMUT N. – *The effect of prior injections of tissue antiserum on the survival of cancer homografts in mice.* Cancer Res. (1952) 12:110.

KALISS N., MOLUMUT N., HARRIS J.L. and GAULT S.D. – *Effect of previously injected immune serum and tissue on the survival of tumor grafts in mice.* J. Nat. Cancer Inst. (1953) 13:847.

KERNAN N.A., BYERS V., SCANNONJ P.J., MISCHAK R.P. et al. – *Treatment of steroid-resistent acute graft-versus-host diseases by in vivo administration of an anti-T-cell ricin A chain immunotoxin.* JAMA (1988) 21:3154.

KIRKMAN R.L., BACHA P., BARRETT L.V., FORTE S. et al. – *Prolongation of cardiac allograft survival in murine recipients treated with a diphteria toxin-related interleukin-2 fusion protein.* Transplantation (1989) 47:327.

KIRKMAN R.L., BARRETT L.V., GAULTON G.N., KELLEY V. et al. – *Administration of an anti-interleukin-2 receptor monoclonal antibody prolongs cardiac allograft survival in mice.* J. Exp. Med. (1985) 162:358.

KIRKMAN R.L., COLVIN R.B., FLYE M.W., WILLIAMS G.M. and SACHS D.H. – *Transplantation in miniature swine. VII. Evidence for cellular mechanisms in hyperacute rejection of renal allografts.* Transplantation (1979) 28:24.

KRISTENSEN T., GRUNNET N., MADSEN M., SOLLING J., FJELDBORG O., OLSEN T.S. et al. – *Hyperacute rejection of a kidney allograft may be caused by cytotoxic lymphocytes.* Acta Pathol. Microbiol. Scand. (1976) 84:304.

LANCASTER F., CHUI Y.L. and BATCHELOR J.R. – *Anti-idiotypic T cells suppress rejection of renal allografts in rats.* Nature (1985) 315:336.

LECHLER and BATCHELOR – *Restoration of immunogenicity to passenger cell-depleted kidney allografts by the addition of donor strain dendritic cells.* J. Exp. Med. (1982) 155:31.

LENHARD V., MYTILINEOS J., HANSEN B., WINGEN A.M., WONIGEIT K. and OPELZ G. – *Immunoregulation after blood transfusions in the rat model: anti-idiotypic antibodies or suppressor cells?* Transplant. Proc. (1985) 17:2393.

LENHARD V., MYTILINEOS J. and OPELZ G. – *Immunomodulation after blood transfusion in the rat.* Transplant. Proc. (1987) 19:1437.

MADSEN J.C., SUPERINA R.A., WOOD K.J. and MORRIS P.J. – *Immunological unresponsiveness induced by recipient cells transfected with donor MHC genes.* Nature (1988) 332:161.

MALKOVSKY M. and MEDAWAR P.B. – *Is immunological tolerance (non-responsiveness) a consequence of interleukin-2 deficit during the recognition of antigen?* Immunol. Today (1984) 5:340.

MATZINGER P. (Hrsg.) – *Immunological Tolerance* (1987) Ciba Geigy Pty Ltd.

McLEOD A.M., POWER D.A., MASON R.J., STEWART K.N. et al. – *Possible mechanism of action of transfusion effect in renal transplantation.* Lancet (1982) II:468.

MEDAWAR P.B. – *Behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits.* J. Anat. (1944) 78:176.

MEDAWAR P.B. – *Relationship between antigens of blood and skin.* Nature (1946) 157:161.

MELCHERS F., ERDEI A., SCHULZ T., and DIERICH M.P. – *Growth control of activated, synchronized murine B cells by the C3d fragment of human complement.* Nature (1985) 317:264.

MEUTH J.L., MORGAN E.L., DI SCIPIO R.G. and HUGLI T.E. – *Suppression of T lymphocyte functions by human C3 fragments. I. Inhibition of human T cell proliferative responses by a kallikrein cleavage fragment of human iC3b.* J. Immunol. (1983) 130:2605.

MILLER R.G. – *An immunological suppressor cell inactivating cytotoxic T lymphocyte precursor cells recognizing it.* Nature (1980) 287:544.

MITCHISON N.A. and DUBE O.L. – *Studies on the immunological response to foreign tumor transplants in the mouse. II. The relation between hemagglutinating antibody and graft resistance in the normal mouse and mice pretreated with tissue preparations.* J. Exp. Med. (1955) 102:179.

MIYAMA-INABA M., SUZUKI T., PAKU Y. and MASUDA T. – *Feedback regulation of immune response by immunecomplexes: possible involvement of a suppressive lymphokine by FcRτ-bearing B cells.* J. Immunol. (1982) 128:882.

MÖLLER G. (Hrsg.) – *T-cell tolerance, Mls and MHC antigen.* Immunol. Rev. (1989) 107:5.
MORGAN E.L. and WEIGLE W.O. – *Polyclonal activation of murine B lymphocytes by immune complexes.* J. Immunol. (1983) 130:1066.
MORRIS P.J. – *Suppression of rejection of organ allografts by alloantibody.* Immunol. Rev. (1980) 49:93.
NAJARIAN J.S. and FELDMAN J.D. – *Passive transfer of transplantation immunity I. Tritiated lymphoid cells II. Lymphoid cells in millipore chambers.* J. Exp. Med. (1962) 115:1083.
NAKAYAMA E. – *Blocking of effector cell cytotoxicity and T-cell proliferation by Lyt antisera.* Immunol. Rev. (1982) 68:117.
NEWELL M.K., HAUGHN L.J., MAROUN C.R. and JULIUS M.H. – *Death of mature T cells by separate ligation of CD4 and the T-cell receptor for antigen.* Nature (1990) 347:286.
NOSSAL G.J.V. – *Immunologic tolerance: collaboration between antigen and lymphokines.* Science (1989) 245:147.
NOSSAL G.J.V. and PIKE B.L. – *Mechanisms of clonal abortion tolerogenesis. I. Response of immature hapten-specific B lymphocytes.* J. Exp. Med. (1978) 148:1161.
NOSSAL G.J.V. and PIKE B.L. – *Functional and clonal deletion in immunological tolerance to major histocompatibility complex antigens.* Proc. Natl. Acad. Sc. USA (1981) 78:3844.
OCKNER S.A., GUTTMANN R.D. and LINDQUIST R.R. – *Renal transplantation in the inbred rat. XIV. Mechanism of the modified rejection produced by bone marrow cell pretreatment.* Transplantation (1970) 9:39.
OPELZ G. – *Improved kidney graft in nontransfused recipients.* Transplant. Proc. (1987) 19:149.
OPELZ G. – *Comparison of the transfusion effect in North America and Europe.* Transplant. Proc. (1988) 20:1069.
OPELZ G., SENGAR D.P.S., MICKEY M.R. and TERASAKI P.I. – *Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants.* Transplant. Proc. (1973) 4:253.
OWEN J.J.T., KINGSTON R. and JENKINSON E.J. – *Generation of cells expressing cytoplasmatic and/or surface T-cell receptor ß chains during the development of mouse fetal thymus.* Immunology (1986) 59:23.
PATEL R. and TERASAKI P.I. – *Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation.* N. Engl. J. Med. (1969) 280:735.
PETRANYI G.G., PADANYI A., HORUZSKO A., RETHY M. et al. – *Mixed lymphocyte culture-evidence that pretransplant transfusion with platelets induces FcR blocking antibody production similar to that induced by leukocyte transfusion.* Transplantation (1988) 45:823.
PIERCE C.W. and KAPP J.A. – *Nonspecific and specific suppressor factors. In: Hadden J.W., Stewart W.E. (Hrsg.): The lymphokines: biochemistry and biological activity.* Clifton, N.J.: Humana Press (1981) S. 209.
PIERSON R.N., WINN H.J., RUSSELL P.S. and AUCHINCLOSS H.J. – *Xenogeneic skin graft rejection is especially dependent on CD4 T cells.* J. Exp. Med. (1989) 170:991.
PISKO E.J., FOSTER S.L., WHITE R.E., PANETTI M. and TURNER R.A. – *Suppression of a pokeweed mitogen-stimulated plaque-forming-cell response by a human B lymphocyte-derived aggregated IgG-stimulated suppressor factor: suppressive B cell factor (SBF).* J. Immunol. (1986) 136:2141.
QUIN S., COBBOLD S., BENJAMIN R. and WALDMANN H. – *Induction of classical transplantation tolerance in the adult.* J. Exp. Med. (1989) 169:779.
RABINOVITCH M., MANEJIAS R.E. and NUSSENZWEIG V. – *Selective phagocytic paralysis induced by immobilized immune complexes.* J. Exp. Med. (1975) 142:827.

RAMMENSEE H.G., KINK P.J. and BEVAN M.J. – *Functional clonal deletion of class I-specific cytotoxic T lymphocytes by veto cells that express antigen.* J. Immunol. (1984) 133:2390.

RAMSDELL F. and FOWLKES B.J. – *Clonal deletion versus clonal anergy: the role of thymus in inducing self tolerance.* Science (1990) 248:1342.

ROHRER J.W. and LYNCH R.G. – *Antigen-specific regulation of myeloma cell differentiation in vivo by carrier-specific T cell factors and macrophages.* J. Immunol. (1978) 121:1066.

ROSER B.J. – *Cellular mechanisms in neonataland adult tolerance.* Immunol. Rev. (1989) 107:179.

ROSER B.J. and DORSCH S.E. – *The cellular basis of transplantation tolerance in the rat.* Immunol. Rev. (1979) 46:55.

ROTHER K., ROTHER U. and BALLANTYNE D.L. – *Serum complement activity in rat recipients of small and massive skin allografts.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1967) 124:439.

ROTHER K. and TERNESS P. – *Immunologic measures: unresponsiveness or tolerance.* In: Cancer in Organ Transplant Recipients, D. Schmähl, I. Penn (Hrsg.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York (1991) (S. 161).

ROUZER C.A., SCOTT W.A., HAMILL A.L., LIU F.T., KATZ D.H. and COHN Z.A. – *Secretion of leukotriene C and other arachidonic acid metabolites by macrophages challenged with immunoglobulin E immune complexes.* J. Exp. Med. (1982) 156:1077.

RYAN J.L., ARBEIT R.D., DICKLER H.B. and HENKART P.A. – *Inhibition of lymphocyte mitogenesis by immobilized antigen-antibody complexes.* J. Exp. Med. (1975) 142:814.

SALVATIERRA O., AMEND W., VINCENTI F. et al. – *Pretreatment with donor-specific blood transfusions in related recipients with high MLC.* Transplant. Proc. (1981) 13:142.

SALVATIERRA O., VINCENTI F., AMEND W. et al. – *Deliberate donor-specific blood transfusions prior to living related renal transplantation.* Ann. Surg. (1980) 192:543.

SANDILANDS GP., HIGHET J., DEGIANNIS D., MCMILLAN M.A. et al. – *"In vitro" studies on lymphocyte Fcτ receptor blocking factors in human renal transplantation.* Immunol. Letters (1990) 26:153.

SAVILL J., DRANSFIELD J., HOGG N. and HASLETT C. – *Vitronectin receptor-mediated phagocytosis of cells undergoing apoptosis.* Nature (1990) 343:170.

SCHIFFL R., TERNESS P. and OPELZ G. – *Prolongation of rat kidney graft survival by preconditioning with antibody-coated cells.* Transplant. Proc. (1985) 17:2414.

SCHIMPL A. and WECKER E. – *Replacement of T cell function by a T cell product.* Nature (1972) 237:15.

SCHRADER J.W. and NOSSAL G.J.V. – *Effector cell blockade. A new mechanism of immune hyporeactivity induced by multivalent antigens.* J. Exp. Med. (1974) 139:1582.

SERCARZ E., OKI A. and GAMMON G. – *Central versus peripheral tolerance: clonal inactivation versus suppressor T cells, the second half of the "Thirty Years War".* Immunology Suppl. (1989) 2:9.

SINCLAIR N.R.ST.C. – *Modulation of immunity by antibody, antigen-antibody complexes, and antigen.* Pharmacol. Ther. (1979) 4:355.

SLAVIN S., FUKS Z., KAPLAN H.S. and STROBER S. – *Transplantation of allogeneic bone marrow without graft-versus-host disease using total lymphoid irradiation.* J. Exp. Med. (1978) 147:963.

SPEES E.K., VAUGHN W.K., WILLIAMS G.M., FILO R.S., McDONALD J.C. et al. – *Effects of blood transfusion on cadaver renal transplantation.* Transplantation (1980) 30:455.

STROBER S. – *Natural suppressor (NS) cells, neonatal tolerance, and total lymphoid irradiation: exploring obscure relationships.* Ann. Rev. Immunol. (1984) 2:219.

STUART F.P., SAITOH R. and FITCH F.W. – *Rejection of renal allografts: specific immunologic suppression.* Science (1968) 160:1463.

STUART F.P., SCOLLARD D.M., MCKEARN T.J. and FITCH F.W. – *Cellular and humoral immunity after allogeneic transplantation in the rat. V. Appearance of anti-idiotypic antibody and its relationship to cellular immunity after treatment with donor spleen cells and alloantibody.* Transplantation (1976) 22:455.

SÜSAL C., TERNESS P. and OPELZ G. – *Suppression of Graft-versus-Host activity in rats by treatment of donor cells with a noncytotoxic immunosuppressive serum.* Transplant. Proc. (1987) 19:572.

TAKIFF H., NOVAK M., YIN L., IWAKI Y. and TERASAKI P.I. – *Examination of the clonal deletion hypothesis following transfusions in rat cardiac transplants.* Transplantation (1987) 43:145.

TERASAKI P.I. – *The beneficial transfusion effect on kidney graft survival attributed to clonal deletion.* Transplantation (1984) 37:119.

TERNESS P., KISIEL U., SÜSAL C. and OPELZ G. – *Prevention of sensitization by transfusion with antibody-coated cells:specificity of suppression and transfer with serum or spleen cells.* Transplant. Proc. (1987 a) 19:1414.

TERNESS P. and OPELZ G. – *Suppression of antibody response to transfusion in rats by preconditioning with antibody-coated cells.* Transplantation (1985 a) 40:389.

TERNESS P., and OPELZ G. – *Regulation of antibody response by an IgG-anti-Ig autoantibody occurring during alloimmunization I. A few IgG molecules inactivate one B cell.* Transplantation (1992 a) 54:88.

TERNESS P. BERTELI A.J., SÜSAL C. and OPELZ G. – *Regulation of antibody response by an IgG-anti-Ig autoantibody occurring during alloimmunization II. Selective inactivation of antigen receptor-occupied B cells.* Transplantation (1992 b) 54:92.

TERNESS P., SCHIFFL R., SÜSAL C. and OPELZ G. – *Induction of a suppressive serum factor, prevention of sensitization, and prolongation of kidney graft survival in rats by transfusion with antibody-coated blood cells.* Transplantation (1988) 46:812.

TERNESS P., SCHIFFL R., SÜSAL C., GUO Z. and OPELZ G. – *Long lasting kidney graft survival after immunization with antibody-coated blood cells: mediation by immunosuppressive autoantibodies?* Immunol. Letters (1990) 26:139.

TERNESS P., SÜSAL C. and OPELZ G. – *Suppression of antibody response to allogeneic blood in rats: a model for preventing sensitization to donor-specific transfusion.* Transplant. Proc. (1985 b) 17:2409.

TERNESS P., WEIMER R., SAICA A. and OPELZ G. – *Crossreactivity of antibody response inhibition by serum of rats immunized with antigen-bound antibody.* Transplant. Proc. (1987 b) 19:4214.

TING A., WILLIAMS K.A. and MORRIS P.J. – *Transplantation: immunological monitoring.* Br. Med. Bull. (1978) 34:263.

TSOKOS G.C., BERGER M. and BALOW J.E. – *Modulation of human B cell immunoglobulin secretion by the C3b component of complement.* J. Immunol. (1984) 132:622.

WAGNER E. – *Geschichtlicher Abriß der Organtransplantation.* In: Transplantationschirurgie, R. Pichlmayr (Hrsg.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, (1981) S. 11.

WILSON R.E., RIPPIN A. and DAGHER K. – *Prolonged canine renal allograft survival after pretreatment with solubilized antigen.* Transplantation (1969) 7:360.

WINEARLS C.J., FABRE J.W., MILLARD P.R. and MORRIS P.R. – *A quantitative comparison of whole antibody and F (ab') 2 in kidney allograft enhancement.* Transplantation (1979) 28:36.

WOOD M.L. and MONACO A.P. – *The effect of cyclophosphamide on the specific unresponsiveness to skin allografts induced in ALS-treated mice infused with donor bone marrow.* J. Immunol. (1977) 118:1456.

PROGRESE ÎN IMUNOLOGIA ONCOLOGICĂ ȘI TRATAMENTELE BIOLOGICE ALE CANCERULUI

Prof. dr. N. GHILEZAN

Universitatea de Medicină și Farmacie
„I. Hațeganu"
Institutul Oncologic
„I. Chiricuță"
Cluj-Napoca

INTRODUCERE

Progresele realizate în ultimul deceniu în descifrarea mecanismelor imunologice fac să se vorbească din ce în ce mai insistent despre imunoterapie ca o a patra metodă de tratament în cancer, capabilă să obțină ameliorări substanțiale sau chiar vindecări în multe cazuri în care tratamentele clasice sau dovedit ineficace.

FIZIOLOGIA SISTEMULUI IMUN

Imunitatea sau funcția biologică de asigurare a integrității organismului prin eliminarea structurilor nocive endo- sau exogene, prezintă două aspecte strâns intricate, imunitatea nespecifică și specifică, apărute succesiv în evoluția speciilor. Ambele tipuri de imunitate necesită recunoașterea propriilor structuri sau „self" și diferențierea lor față de cele străine sau nocive, respectiv „non-self" și se realizează prin celule (imunitate celular-mediată) sau molecule solubile în lichidele biologice (imunitate umorală).

Desfășurarea răspunsului imun se face în mai multe etape (tabelul 1) prezentate în detaliu într-o lucrare anterioară (1). Dintre acestea, recunoașterea antigenului și activarea limfocitelor cu amplificarea ulterioară a

răspunsului prin intermediul citokinelor, sunt printre cele mai importante momente ale acestui proces extrem de complex, asupra cărora cercetări din ultimii ani, au relevat noi aspecte care au deschis posibilități extrem de interesante pentru manipularea în scop terapeutic a sistemului imun.

Tabelul 1

Etapele răspunsului imun:

1) : întâlnirea antigenului (Ag) care semnifică orice element diferit de structurile pe care organismul le accepta ca normale, cu o celulă capabilă să inițieze un răspuns

2) : recunoașterea ca atare a Ag și discriminarea între „self" și „non-self", pentru evitarea leziunilor țesuturilor normale (reacțiile autoimune)

3) : activarea celulelor imun-competente ca răspuns la recunoașterea Ag

4) : amplificarea și diversificarea răspunsului inițial prin cooperarea cu toate elementele sistemului imun

5) : declanșarea mecanismelor efectoare ale imunității, și

6) : reglarea intensității răspunsului imun la încărcătura antigenică ce l-a declanșat și stingerea reacției după suprimarea cauzei care a declanșat-o.

RECUNOAȘTEREA ANTIGENELOR

Limfocitele T care reprezintă cca 80% din limfocitele circulante, recunosc structurile antigenice cu ajutorul unor receptori specifici (RT) situați la suprafața lor. Acești receptori sunt formați din două lanțuri polipeptidice (α/β sau γ/δ) legați de complexul molecular CD3, specific limfocitelor T. Marea majoritate a limfocitelor T mature prezintă receptorul α/β și după recunoașterea antigenului transmit informația nucleului celular prin intermediul complexului CD3. Receptorul γ/δ este prezent doar la cca 5% din celule și funcția lui nu este încă cunoscută (2).

Pentru ca un antigen să poată fi recunoscut el trebuie prezentat sub o formă accesibilă, după o prealabilă fragmentare și prelucrare *(processing)*, rol pe care îl îndeplinesc celule specializate numite celule prezentatoare de antigen (APC = Antigen Presenting Cell). Antigenul procesat este expus pe suprafața acestor celule în asociere cu moleculele complexului major de histocompatibilitate CMH sau HLA (Human Leukocyte Antigens). Limfocitele T_H sau CD4+ recunosc moleculele de clasa II a CMH față de limfocitele T_C sau T_S CD8+ care recunosc moleculele de clasa I (fig. 54) (3). Moleculele de clasa I corespund antigenelor HLA-A, B și C, prezente pe suprafața tuturor celulelor cu excepția hematiilor și sunt asociate cu peptide de mici dimensiuni provenite

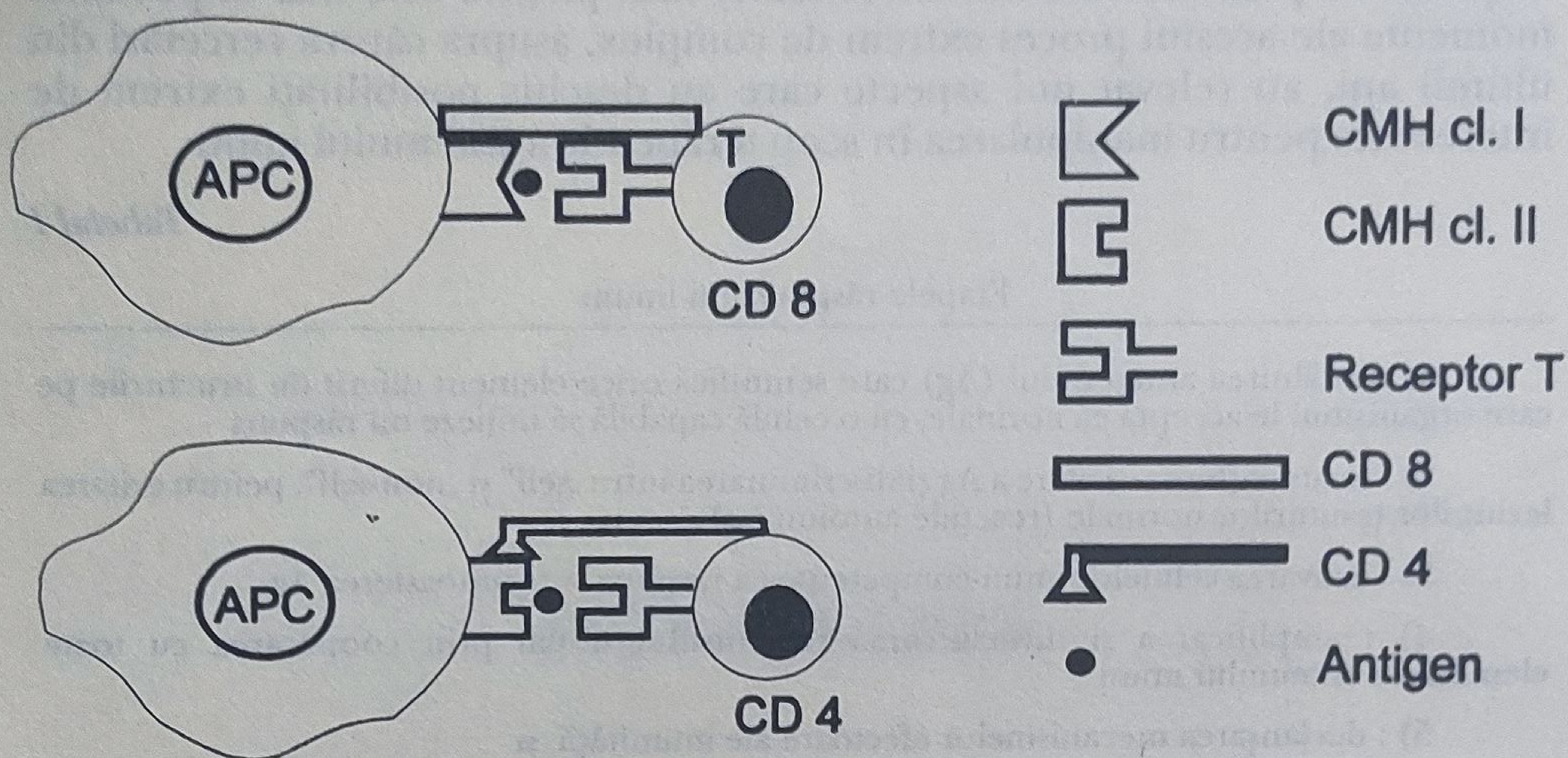


Fig. 54. Recunoaşterea antigenelor de către limfocitele T: antigenul procesat de celulele prezentatoare – APC este prezentat pe suprafaţa acestora în asociere cu moleculele CMH de clasa I sau II. Limfocitele T CD8+ recunosc antigenul în asociere cu CMH clasa I iar cele CD4+ în prezenţa CMH clasa II.

din proteine endogene (4). Moleculele de clasa II, corespund antigenelor HLA-D exprimate pe limfocitele B, unele monocite, limfocite T activate şi sunt asociate cu peptide formate din 15–22 acizi aminaţi, provenite din proteine exogene în urma unui proces de endocitoza (5). Imposibilitatea limfocitelor T de a recunoaşte Ag numai când acesta este prezent în asociere cu moleculele CMH defineşte fenomenul de restricţie imunologică.

În afara rolului pe care îl au în procesul de recunoaştere a Ag, moleculele CMH au şi rolul de a întări contactul dintre celule, favorizând astfel activarea limfocitelor. Absenţa moleculelor CMH influenţează negativ răspunsul imun fiind o cale de evaziune a rezistenţei imune pentru celulele tumorale. Există o corelaţie pozitivă între expresia moleculelor CMH clasa I, gradul de diferenţiere tumorală şi prognostic (6). În timpul progresiei tumorale asistăm însă de multe ori la diminuarea sau chiar pierderea expresiei acestor determinanţi antigenici care are ca rezultat o scădere a răspunsului CTL şi o creştere relativă a răspunsului celulelor NK.

Limfocitele T au funcţii multiple şi pe baza fenotipului lor se disting două grupe: limfocite T activatoare sau *helper* (CD4+) şi citotoxice (CD8+). Limfocitele T CD4+ în urma contractului cu Ag eliberează o gamă largă de molecule numite generic citokine sau interleukine, etapa indispensabilă în desfăşurarea ulterioară a răspunsului imun. Limfocitele T CD8+ sunt celule efectoare capabile să distrugă celulele pe care le-au recunoscut.

Recent, pentru limfocitul T_H s-a descris un model de diferențiere în care se disting două subtipuri T_{H1} și T_{H2} dintre care primul este implicat în imunitatea antimicrobiană și antitumorală și al doilea, în mod specific în alergie. Diferența dintre aceste două subtipuri este dată de gama de citokine pe care le secreta și care le pot influența diferențierea: T_{H1} **secretă IL-1, 1L-3, IFNγ**, TNF-α, TNF-β și GM-CSF și este stimulat de IFNγ. Limfocitul T_{H2} eliberează IL-3, 4, 5, 6, 9 și 10, TNF-α și este stimulat de IL4. Identificarea citokinelor care stimulează această diferențiere oferă perspectiva utilizării lor pentru direcționarea diferențierii limfocitului pe linia apărării antitumorale (7, 8, 9).

Limfocitele B, cca 5–15% din limfocitele circulante, sunt activate de contactul cu un Ag străin sau în prezența factorilor eliberați de limfocitele T CD4+. Ele se diferențiază în plasmocite producătoare de anticorpi dintre care unii pot recunoaște specific anumite Ag tumorale și astfel intervin în mecanismul efector ADCC (Antibody Dependent Cellular Cytoxicity).

Celulele NK (Natural Killer) reprezintă tot 5–15% din **limfocitele** circulante și derivă din celule care conțin granulații mari în citoplasmă numite LGL (Large Granular Lymphocytes) caracterizate prin markerii Cd16 și CD56. Molecula Cd16 este un receptor pentru fragmentul Fc al imunoglobinei G prin care celula NK se poate lega de un complex imun (Ag-Ac) declanșând o reacție ADCC. Molecula CD56 este o glicoproteină din familia proteinelor de adeziune celulară de tipul NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule) care intervine în atașarea celulei NK de celula țintă. Față de limfocitul T citotoxic, celula NK nu necesită o activare prealabilă având o citotoxicitate nespecifică și fără restricția impusă de recunoașterea antigenelor CMH.

Monocitele și macrofagele prin capacitatea lor de fagocitare au un rol dublu, de prezentare a Ag și inițiere a răspunsului imun, și totodată rol efector prin multiple mecanisme: ADCC, eliberare de proteaze sau TNF (Tumor Necrosis Factor).

Al doilea element al procesului de recunoaștere antigenică este antigenul însuși. Spre deosebire de tumorile experimentale induse de diverse substanțe chimice, virusuri sau radiații și care sunt puternic imunogenice, tumorile spontane induc un răspuns imun slab. Antigenele tumorale identificate până în prezent nu sunt specifice în sensul că ele se regăsesc și pe țesuturile normale, adulte sau embrionare, de aceea au fost numite antigene asociate tumorilor (TAA: Tumor Associated Antigens). Lipsa de specificitate a acestor antigene explică răspunsul slab și eșecul de până acum al încercărilor de imunizare după modelul clasic antiinfecțios. În 1991 însă, pentru prima dată s-a reușit identificarea la un caz de melanom, a unei familii de gene specifice, genele MAGE (10,11). Aceste gene constituie o familie de 12 gene foarte asemănătoare localizate pe cromozomul X care deși prezente în toate celulele organismului nu sunt exprimate decât pe celulele tumorale iar din

ţesuturile normale, numai pe testicul. Genele MAGE-1 sunt prezente în cca 40% din melanoame, 20% în cancerele mamare şi 30% în cancerele pulmonare non-small, antigenul codificat fiind prezentat de molecula HLA-A1 şi recunoscut de limfocitul T citotoxic (CTL: Cytotoxic T Lymphocite). Varianta MAGE-3 este exprimată în 85% din melanoame şi codifică de asemenea un antigen specific recunoscut de CTL în asociere cu determinantul HLA-A1. Aceste descoperiri permit noi modalităţi de imunoterapie specifică prin identificarea bolnavilor cu gena MAGE prezentă care pot fi apoi imunizaţi cu celule care conţin antigenul codificat de aceasta.

Recunoaşterea antigenului declanşează diversele mecanisme efectoare ale imunităţii. Concomitent cu activarea limfocitului T CD4+ pot fi activate şi limfocitele T CD8+ prin recunoaşterea unui Ag specific în asociere cu molecule de clasa I CMH, prezent pe suprafaţa unei APC sau a celulelor tumorale. Activarea limfocitelor CD4+ se materializează în eliberarea de diverse citokine dintre care cele mai importante pentru desfăşurarea ulterioară a meanismelor efectoare sunt interleukina 2 (IL-2) şi interferonul gamma (IFNγ).

CITOKINELE ŞI MECANISMELE EFECTOARE ALE IMUNITĂŢII

Citokinele sunt substanţe glicoproteice non-imunoglobulinice care au capacitatea de a modifica comportamentul şi modul de creştere al celulelor constituente ale sistemului imun. Citokinele, cu efecte extrem de diverse, acţionează într-un mod asemănător hormonilor polipeptidici, prin mecanisme autocrine şi paracrine, respectiv în zone strict limitate, de ordin microscopic şi foarte rar pot fi detectate în circulaţia generală atât din cauza spaţiului restrâns în care acţionează cât şi datorită perioadei lor de înjumătăţire extrem de scurte. În urma legării citokinelor cu un receptor specific de pe suprafaţa celulei ţintă, semnalul de proliferare şi activare este transmis prin sistemul celui de al doilea mesager, prin intermediul proteinkinazei C sau AMP ciclic. În raport cu modul lor de acţiune biologică se disting patru grupe de citokine: interferonul, interleukinele, factorii de creştere hematopoietici şi factorul de necroză (tabelul 2). Acţiunea acestor citokine este pleiotropică, redundantă şi ierarhizată în sensul că se desfăşoară într-o anumită secvenţă (12). Citokinele stimulează nu numai proliferarea celulară dar şi diferenţierea sau viabilitatea celulelor ţintă şi pot induce şi alte modificări cum ar fi radio- sau chimiosensibilitatea lor prin declanşarea fenomenului de apoptoză. În prezent citokinele, principalul mijloc de influenţare a reacţiilor de apărare ale organismului, reprezintă fundamentul tratamentelor biologice în oncologie.

Tabelul 2

Clasificarea citokinelor

Clasa și tipul	Sinonim	Celula de origine	Acțiune biologică
A. INTERFERON			
– IFN α	IFN leucocitar	monocit/macrofag	– antivirală – diferențiere – citostatică
– IFN β	IFN fibroblast	fibroblast	– activare NK, Tc
– IFN γ	IFN imun	limfocit T	– citostatic – citotoxic – inductor HLA-I – activator macrofag
B. FACTORI DE CREȘTERE			
– Hematopoietina CSF		limfocit	
Clasa 1:			
granulocit/macrofag (GM-CSF)		pluripoietin CSF endoteliu	fibroblast
Clasa II:			
– granulocit (G-CSF)	CSF-1	fibroblast endoteliu	
– macrofag M-CSF			
– eritropoietin Epo		rinichi	
C. INTERLEUKINE			
– IL-1:	hemopoietin 1	macrofag fibroblast limfocit T	
– IL-2:	factor de creștere T	limfocit T	
– IL-3:	hemopoietin 2 multi CSF	limfocit T	
– IL-4:	factor 1 de stimulare celule B	limfocit T	
– IL-5:	factor de diferențiere eozinofile	limfocit T	
– IL-6:	factor 2 de stimulare celule B	limfocit T	
– Il-7: 1		imfocit T	– induce expresia CMH clasa I – stimulează limfocitele CD4+ – induce proliferarea limfocitelor B imature

Clasa și tipul	Sinonim	Celula de origine	Acțiune biologică
– IL-8:	limfocit T		stimulează infiltrația locală și activarea celulelor fagocitare
– IL-9:	factor de creștere limfocit T, mastocite, megacariocite, hematii	limfocit T	
– IL-10:	limfocit T_{H2}		– induce expresia CMH cl:II pe limfocitele B – crește producția de AC – stimulează mastocitele și limfocitele T – inhibă monocitele/ macrofage
– IL-11:	celule stromale		stimulează producerea de trombocite
– IL-12:	NKSF: Natural Killer Stimulatory Factor	limfocite T	stimulează producția de IFN γ
D. FACTORUL DE NECROZĂ TUMORALĂ			
– TNF α	casectină	macrofag/monocit	
– TNF β	limfotoxina	limfocit T	

Citokinele acționează prin stimularea mecanismelor efectoare ale imunității care pot fi clasificate în induse sau antigen specifice și naturale sau celular mediate (tabelul 3).

Mecanismele imune induse, antigen specifice au ca substrat activarea sistemului complement și citotoxicitatea celulară dependentă de anticorpi care constituie răspunsul umoral, și un răspuns celular susținut de limfocitul T citotoxic.

Tabelul 3

Mecanismele efectoare ale imunității

A. Imunitate indusă, antigen specifică:
1. Imunitate umorală:
   a) activarea sistemului complement
   b) citotoxicitate celulară dependentă de anticorp (ADCC: Anticorp Dependent Cellular Citotoxicity)
2. Limfocitul T citotoxic

B. Imunitatea naturală celular mediată:
1. Sistemul NK, LAK și LANAK
2. Celulele NC
3. Celulele ADK (Anticorp Dependent Killer)
4. Sistemul macrofagic

Imunitatea umorală antigen specifică se realizează prin legarea anticorpilor de structurile antigenice, care în cazul celulelor tumorale este rareori suficientă. Eficacitatea ei crește prin cuplarea anticorpului legat de antigen, cu o celulă efectoare mononucleară care are receptor pentru fragmentul Fc al anticorpului, respectiv mecanismul ADCC. Celula efectoare, cu receptori Fc numită generic celula K (Killer), poate fi monocit, macrofag, polinuclear, celula T, sau celula lipsită de markeri („null") (fig. 55).

Imunitatea celulară antigen specifică este susținută de limfocitul T citotoxic – CTL, care acționează cu mare specificitate asupra celulelor tumorale, sunt timus dependente, au memorie, prezintă fenomenul de restricție impus de CMH, dar au nevoie de o perioadă de latență pentru activare și rolul lor este destul de limitat.

Mecanismele celulare citotoxice naturale includ o mare varietate de celule efectoare (tabelul 3, (fig. 55) care acționează rapid, fără perioadă de latență și recunosc un spectru foarte larg de structuri membranale. Activitatea

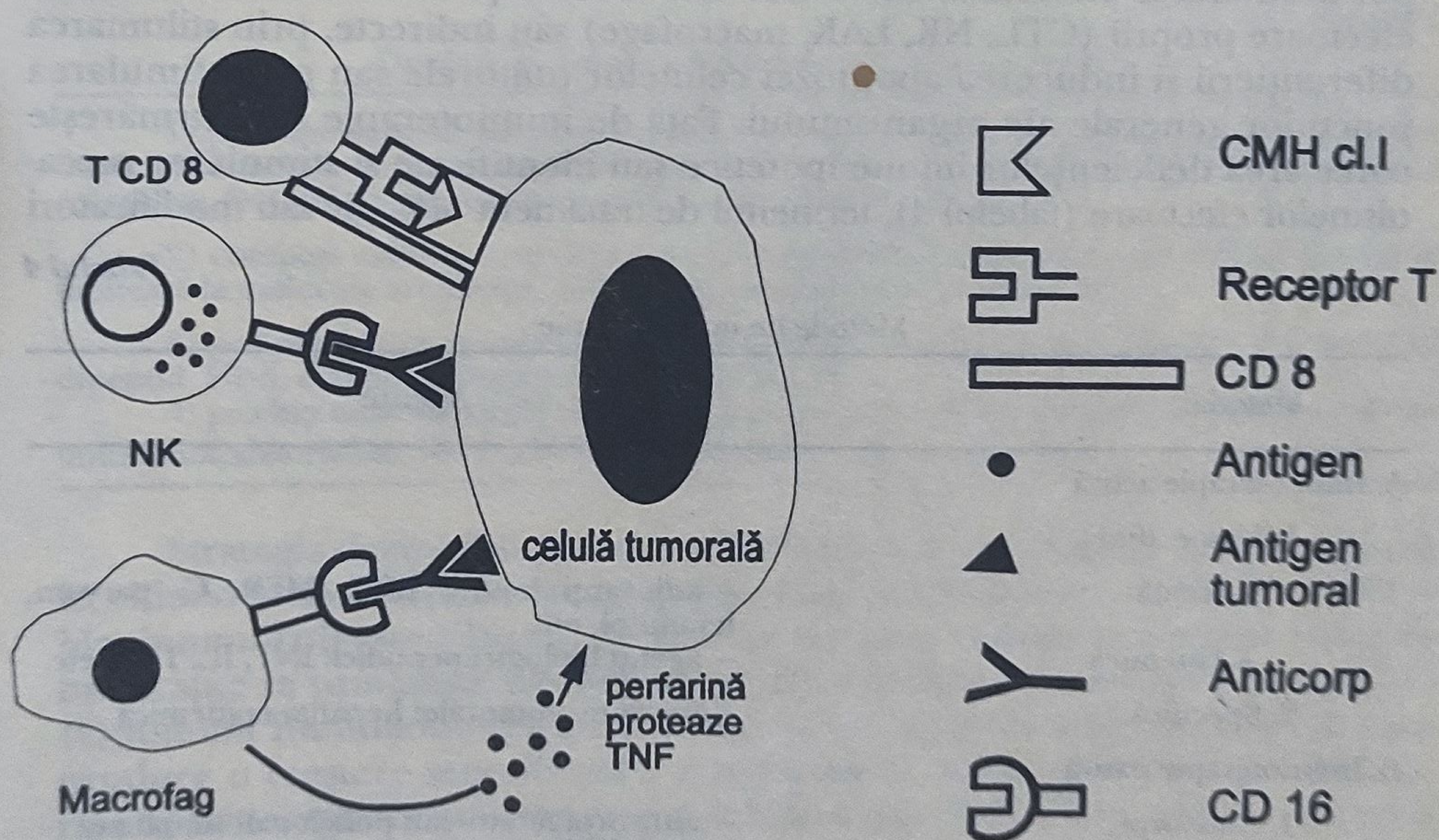


Fig. 55. Mecanismele citotoxice ale celulelor efectoare: Limfocitul citotoxic CD8+ –(CTL): recunoaște antigenul asociat cu CMH clasa I. Celula NK: efect citotoxic direct, de natura enzimatică și prin mecanism ADCC. Celulele cu receptor CD16 se leagă de porțiunea Fc a imunoglobulinelor cuplate cu un antigen. Macrofag: citotoxicitate ADCC și de natura enzimatică prin TNF și diverse alte proteaze.

lor litică este independentă de timus sau CMH, dar este limitată de o distribuţie caracteristică de organ, acţionând predominent în sângele periferic şi mai puţin în ţesuturi, în special celulele NK.

TRATAMENTELE BIOLOGICE ALE CANCERULUI

Terapia biologică reprezintă utilizarea unor materiale biologice, celule sau produşi celulari care acţionează direct asupra proliferării, diferenţierii sau viabilităţii celulelor maligne sau a celor imunocompetente ale gazdei, modificând astfel răspunsul organismului faţă de tumoră. Tratamentele biologice pot avea efecte citotoxice sau citostatice directe prin stimularea celulelor efectoare proprii (CTL, NK, LAK, macrofage) sau indirecte, prin stilumarea diferenţierii şi inducerea apoptozei celulelor tumorale sau prin stimularea funcţiilor generale ale organismului. Faţă de imunoterapie care urmăreşte corectarea deficienţelor imune ipotetice sau identificate şi stimularea mecanismelor efectoare (tabelul 4), termenul de tratament biologic sau modificatori

Tabelul 4

Metode de imunoterapie

Metoda:	Agenţi:
A. Imunoterapie activă	
1. Nespecifică	
– locală	– adjuvanţi imuni: BCG, MER, C. parvum, levamisol, etc.
– sistemică	– agenţi biologici peptidici: INT, IL, TNF, etc.
2. Specifică:	– vaccinuri tumorale: hepatita epidemică
B. Imunoterapie pasivă	
1. Anticorpi	– anticorpi mono- sau policlonali simpli sau conjugaţi cu toxine, citostatice sau radionuclizi
2. Celule	– celule LAK, LANAK, TIL
C. Indirectă	– creşterea gradului de imunocompetenţă prin îndepărtarea factorilor supresori (plasmafereză,) hiperalimentaţie, inhibiţia factorilor de creştere, etc.

ai răspunsului biologic – MRB (BRM: Biological Response Modifiers) este mult mai larg și se referă la toate posibilitățile de ameliorare a răspunsului organismului chiar dacă în mare parte cele două noțiuni se suprapun.

În concepția actuală MRB sunt agenții care modifică raportul tumoră – gazdă prin reglarea răspunsului gazdei față de tumoră cu efecte terapeutice consecutive (13). Mecanismul lor de acțiune este divers (tabelul 5) și corespunde diferitelor clase de molecule (tabelul 6).

Tabelul 5

Mecanismele acțiunii terapeutice a MRB (după Talmadge, 1992)

1) cresc răspunsul antitumoral prin stimularea mecanismelor efectoare ale gazdei sau diminuarea mediatorilor cu acțiune negativă asupra reactivității gazdei
2) cresc mecanismele de apărare ale gazdei prin administrarea unor molecule biologice (sau derivați sintetici-recombinați) ca efectori sau mediatori ai răspunsului antitumoral
3) cresc capacitatea gazdei de a tolera leziunile produse de tratamentele oncologice toxice

Tabelul 6

Originea și definirea MRB (după Talmadge, 1992):

1) proteine naturale care pot fi produse de sistemul imun al gazdei, cu sau fără acțiune imunomodulatorie dar cu potențial terapeutic: interferon, interleukine, factori de stimulare a coloniilor, factorul de necroză tumorală, limfotoxina, citolizina, etc.;
2) compuși chimici sintetici cu proprietăți imunoregulatoare care includ dar nu se limitează la molecule aromatice, alifatice, heterociclice, pirimidone etc.;
3) polipeptide cu greutate moleculară mică: bestatin, FK-565, therafectin, muramil dipeptid, HP-5, compuși timopoetici (thymosina), etc.
4) produși naturali parțial caracterizați: extracte purificate sau supernatante, cu acțiune imunomodulatorie dar fără individualizarea (încă) a structurii eficace.

Strategia dezvoltării tratamentelor biologice este diferită de cea utilizată în chimioterapie: față de conceptul de doză maximă tolerată DMT (MTD – Maximum Tolerated Dose) pe care se bazează utilizarea citostaticelor, în bioterapie se urmărește definirea unei doze imunomodulatorii optime DIO (Optimum Immunomodulatory Dose). DIO este doza minimă de MRB care produce o creștere semnificativă a activității celulelor efectoare corelată cu răspunsul terapeutic și în general este inferioară DMT. Răspunsul la acțiunea MRB se prezintă astfel sub forma unei curbe în „clopot" („bell-shaped") (fig. 56) ceea ce denotă posibilitatea obținerii unui efect terapeutic nu numai la nivelul dozei maxime tolerate dar și la doze inferioare. Aceasta permite ca testarea unor noi molecule sau strategii terapeutice să se facă prin măsurarea unor parametri imuni ca de exemplu activarea macrofagelor, a celulelor NK, etc. care sunt colerate cu răspunsul terapeutic, dar care va deveni manifest mult mai târziu.

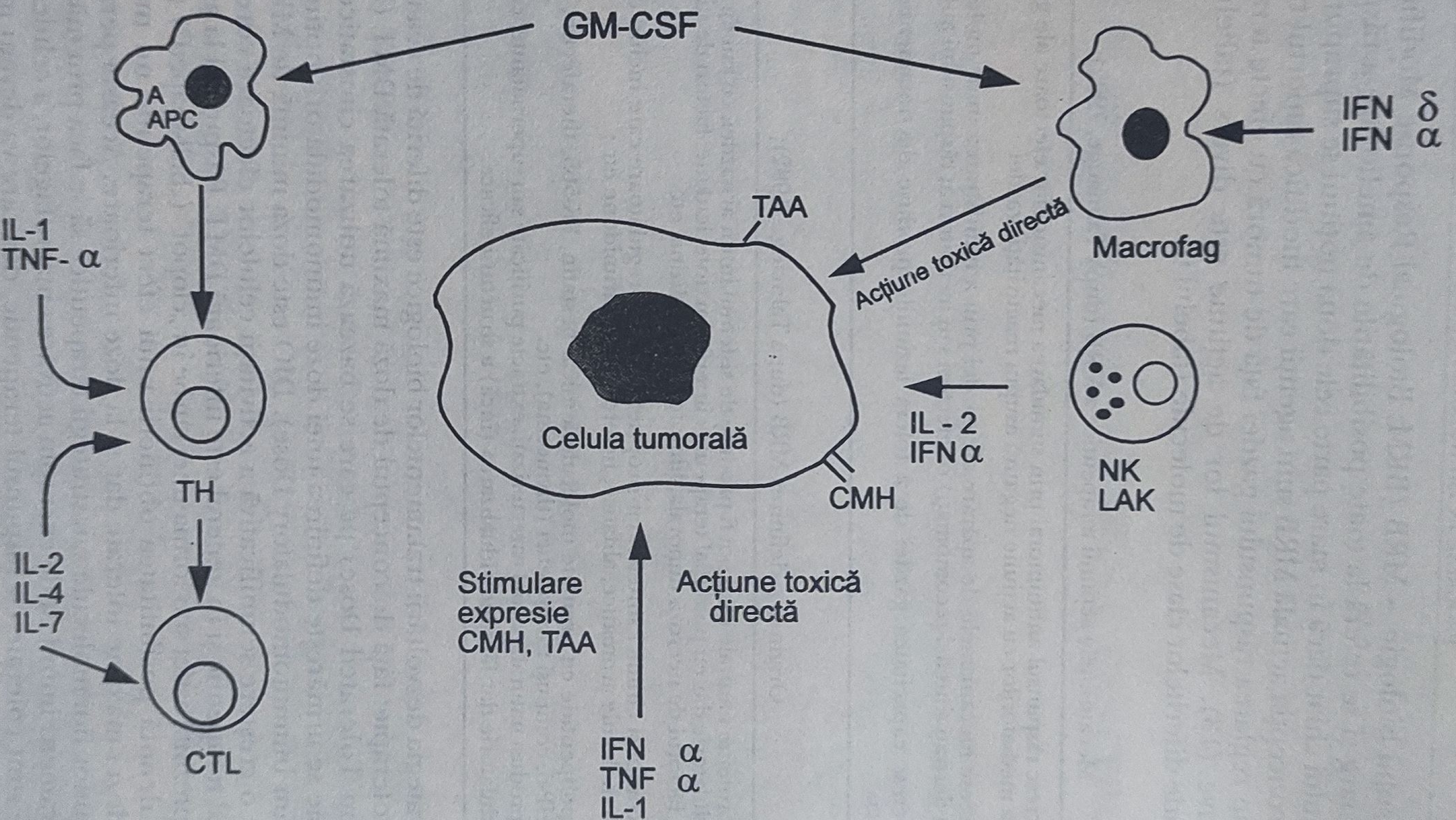


Fig. 56. Doza imunomodulatorie optimă: curba doză răspuns în formă de „clopot" care indică lipsa de paralelism între mărimea dozei și intensitatea efectului obținut.

O altă caracteristică generală a MRB este toxicitatea lor, de altă natură decât a citostaticelor. Reacțiile toxice acute sunt febra sau stările subfebrile, mialgii, hipotensiune, cefalee, astenie, conturând un sindrom pseudogripal. Complicația cea mai gravă este sindormul de permeabilitate capilară cu retenție lichidiană. MRB produc leziuni endoteliale care permit extravazarea lichidelor ceea ce duce la hipovolemie cu hipotensiune, edem, creștere în greutate, edem pulmonar, insuficiență renală și semne nevrologice (stări confuzive, halucinații, convulsii). Toxicitatea este rapid reversibilă după suprimarea MRB și poate fi prevenită prin evitarea administrării în doze mari, unice, în bolus, în favoarea dozelor mici în ritm continuu.

Toxicitatea tardivă sau cronică nu se cunoaște încă, dar la animalele de experiență s-au semnalat diverse stări de degradare biologică și moarte prematură datorită unei activări excesive a macrofagelor.

Progresele bioterapiei în ultimii zece ani au fost mai mult decât spectaculare și astăzi se poate realmente vorbi despre tratamentele biologice ca a patra metodă de tratament a cancerului, cu indicații bine precizate mai ales în afecțiuni în care terapeutica clasică s-a dovedit ineficace. Principalele progrese realizate în dezvoltarea tratamentelor biologice pot fi grupate în următoarele capitole: citokine, factori de creștere, inductori ai diferențierii, anticorpi monoclonali și terapia genetică. Cu mare probabilitate însă, o cale majoră de utilizare a MRB va fi utilizarea lor în combinație sau în asociere cu alte tratamente, citostatice sau radiații în oncologie și antibiotice în patologia infecțioasă.

CITOKINE

Citokinele intrate deja definitiv în arsenalul terapeutic sunt interferonul, interleukina 2 și factorul de necroză celulară iar cu perspective de aplicare într-un viitor foarte apropiat, interleukinele 4 și 10.

INTERFERONUL

În funcție de celula de origine, se descriu 3 clase de interferon – IFN: produs de leucocite (inclusiv limfocite și macrofage) – IFN α, fibroblaști, – IFN β și de limfocitele T-IFN γ. Proprietățile biologice ale acestor molecule sunt pleiotropice, cu diferențe între IFN α & β și IFN γ (14):

- acţiune imunomodulatorie:
  - activarea celulelor NK şi CTL;
  - inducerea antigenelor CMH clasa I;
- activitate antivirală:
  - inducerea de enzime din lanţul sistemului celui de al 2-lea mesager (oligoadenilatsintetază, protein kinaze);
- activitate antiproliferativă:
  - inhibiţia angiogenezei;
  - inductor al diferenţierii;
  - interacţiuni cu alte citokine;
  - creşterea expresiei unor antigene de suprafaţă inclusiv antigene asociate tumorilor (TAA);
  - acţiune citotoxică directă (15);
- IFN γ are proprietăţi biologice diferite:
- activitate imunomodulatorie prin:
  - activarea monocitelor şi macrofagelor;
  - stimularea antigenelor CMH clasa II;
  - inducerea producţiei de anticorpi;
  - inducerea receptorilor IL-2;
- activitate antimicrobiană;
- reglarea metabolismului grăsimilor şi a acidului arachidonic (16).

Cel mai utilizat în terapie este IFN α cu rezultate favorabile în afecţiuni hematologice ca leucemia mieloidă cronică, leucemia cu celule păroase, mielom multiplu, limfoame T cutanate, sarcom Kaposi la bolnavii cu SIDA, sau în tumori solide ca melanom, carcinom renal, carcinoidul intestinal. Răspunsurile variază între 10 şi 25%, dar tendinţa actuală este de a-l asocia fie cu alţi MRB (IL-2, TNF) sau cu chimioterapie. IFN γ nu s-a dovedit superior pentru indicaţiile deja clasice ale IFN a respectiv melanom şi carcinomul renal, dar rezultate extrem de interesante au fost obţinute prin administrări intracavitare: 60% răspunsuri complete în administrare intraperitoneală pentru leziuni reziduale microscopice de cancer ovarian (17).

INTERLEUKINA 2-IL-2

IL-2 produsă de limfocitul T activat în urma contactului cu antigenul şi IL-1 este al doilea semnal în dezvoltarea şi amplificarea răspunsului imun. Principalele proprietăţi sunt:

– activează și stimulează proliferarea limfocitelor T, a celulelor NK și în mai mică măsură a limfocitelor B;
– stimulează activitatea citotoxică a celulelor T și celulelor NK (care devin astfel celule LAK: Lymphokine Activated Killer);
– inducerea secreției altor limfokine (IFN γ, TNF, factorii de creștere a limfocitelor B-IL-5, IL-6);
– inducerea secreției de anticorpi de către limfocitele B;
– creșterea citotoxicității monocitelor.

Față de reacțiile toxice generale ale citokinelor, IL-2 poate avea efecte extrem de nocive asupra măduvei hematopoietice (anemii și trombocitopenii severe, eozinofilie, leucocitoză), leziuni hepatice (creatinemie, bilirubinemie), manifestări cutanate (eritrodermie, prurit, favorizarea infecțiilor cutanate), artralgii, tiroidite (declanșarea unor mecanisme auto-imune?) (18).

Principalele indicații ca tratament unic sunt reprezentate de carcinomul renal pentru care IL-2 este cel mai eficace agent terapeutic, și melanomul malign, cu 20–25% răspunsuri. În prezent se preferă administrarea unor doze medii sau mici în injecții subcutanate care permit efectuarea tratamentelor chiar ambulator (19).

Principala utilizare a IL-2 este sub forma imunoterapiei cu celule adoptive: LAK, LANAK (Lymphokine Activated Natural Killer) sau TIL (Tumor Infiltrating Lymphocytes) (19, 20).

Celulele LAK sunt limfocite izolate din sângele periferic după o perfuzie prealabilă cu IL-2 timp de cca 5 zile. Între zilele 8–12, când are loc o creștere accentuată a limfocitelor, bolnavilor li se face zilnic o leucofereză și limfocitele recoltate sunt cultivate în cultură pentru 72 ore, în prezența de IL-2. În zilele 12–15, bolnavii sunt apoi transfuzați cu limfocite ținute în cultură timp de 3 zile, concomitent cu perfuzii cu IL-2. Rezultatele obținute sunt de 35% răspunsuri în carcinomul renal, 21% pentru melanom metastazat, 17% cancer colorectal metastazat și 57% în limfoame non Hodgkin (20). O posibilă creștere a eficacității LAK/1L-2 este administrarea locoregională cum sugerează unele rezultate publicate în cancerele ORL (21).

Celulele LANAK sunt o populație selecționată de celule NK obținută prin tehnici sofisticate de purificare, puse la punct la Institutul G. Roussy (2, 19) care față de celulele LAK au un plus de specificitate și eficacitate.

Celulele TIL sunt obținute prin dilacerarea mecanică și digestia enzimatică a unor fragmente de tumoră. Aceste limfocite autologe, susceptibile de a fi „activate" in vivo sunt amplificate în cultură în prezența de IL-2 pentru o durată de mai multe săptămâni după care sunt reinjectate bolnavului. Faptul că sunt recoltate din fragmentul tumoral, sugerează o sensibilizare a lor, respectiv au fost capabile să recunoască deja antigenul și să fie deci mai active. Rezultatele încă nu sunt concludente, dar numeroase studii sunt în curs în melanom, carcinom renal, cancer pulmonar, mamar și ovar (2).

FACTORUL DE NECROZĂ TUMORALĂ – TNF

TNF are un foarte puternic efect citotoxic și citostatic asupra unei mari varietăți de tumori dar aplicarea lui clinică este limitată din cauza toxicității generale (22). După mai multe încercări neconcludente, au fost prezentate recent rezultate extrem de favorabile în melanoame și sarcoame de părți moi ale membrelor, în administrarea prin perfuzii cu circulație extracorporală. Izolarea membrului perfuzat a permis diminuarea reacțiilor acute care conturează un sindrom toxic extrem de sever – SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) datorită acțiunii TNF asupra celulelor endoteliale și activării polimorofonuclearelor. Într-un studiu comparativ făcut la Institutul J. Bordet din Bruxelles, F. Lejeune a obținut cu TNF 96% răspunsuri complete în melanoame avansate (stadiul III: 46 din 48 bolnavi)! Rezultate la fel de bune au fost obținute cu aceeași metodă, în sarcoame de părți moi: 50% răspunsuri complete după TNF și păstrarea membrului la 88% din bolnavi.

ALTE CITOKINE

INTERLEUKINA-4: este o moleculă polipeptidică cu proprietăți multiple și extrem de interesante pentru oncologie:
- stimulează proliferarea limfocitelor B;
- activează și stimulează proliferarea CTL;
- activează fibroblaștii, neutrofilele, celulele sușe hematopoetice, monocitele.

IL-4 inhibă secreția de Il-1 și IL-6 a macrofagelor, citokine care intervin în mecanismele autocrine și paracrine de creștere ale unui mare număr de tumori, în special imunoproliferative (24). Primele rezultate au fost foarte favorabile și pe lângă eficacitatea netă antitumorală demonstrată, toxicitatea este minimă cu efect extrem de benefic asupra stării generale.

INTERLEUKINA-10: este produsă de macrofage, limfocitele B și T, cu rol în stimularea răspunsului umoral, în special imunoglobuline G, A și M. IL-10 are și un efect inductor al diferențierii pentru o serie de linii leucemice, dar în același timp are și un efect imunosupresor prin diminuarea expresiei antigenelor clasa II a CMH (25). Principalele indicații ar decurge din aceste proprietăți: inducerea diferențierii în sindroamele imunoproliferative, prevenirea reacției grefă contra gazdă, tratamentul bolilor autoimune.

FACTORI DE CREȘTERE

În grupa factorilor de creștere sunt incluse polipeptidele cu efect asupra țesutului hematopoietic numite generic factori hematopoietici de creștere sau de stimulare a coloniilor – CSF (Colony Stimulating Factors) deoarece cresc producerea de granulocite, macrofage, megacariocite și eritrocite. Acțiunea lor se exercită preferențial asupra anumitor linii celulare și pentru un anumit grad de diferențiere. Cei mai utilizați sunt GM-CSF care stimulează producerea de neutrofile, macrofage și eozinofile și G-CSF, mai specific, practic numai pentru granulocite.

Folosiți inițial pentru combaterea neutropeniei în timpul chimioterapiei, factorii de creștere hematopoietică au fost extinși și în alte domenii, pe parcursul utilizării lor punându-se în evidență multiple efecte biologice.

În chimioterapie există o relație netă doză–efect, dozele terapeutice obligatorii fiind foarte apropiate de limita de toleranță a țesuturilor normale. O scădere a dozei administrate cu numai 15% față de doza optimă, scade efectul terapeutic cu mai mult de 50%. Principalii parametri ai chimioterapiei sunt doza și ritmul de administrare din care rezultă noțiunea de „intensitate a dozei" decisivă pentru succesul terapeutic (1). Cum principala toxicitate care limitează administrarea citostaticelor este cea hematologică, utilizarea CSF a fost rapid introdusă în clinică (26, 27). După rezultatele excelente obținute în scurtarea perioadei de leucopenie severă, diminuarea complicațiilor infecțioase, scurtarea întreruperilor, respectarea ritmului și dozelor optime de chimioterapie sau iradiere, scurtarea perioadei de spitalizare (28). CSF au permis creșterea dozelor de citostatice și apoi au fost utilizați și pentru accelerarea refacerii hematologice în cazurile de transplant de măduvă osoasă (29, 30, 31). Mai recent CSF se folosesc în transplantul de celule stem hematopoietice din sângele periferic (PBPC sau PBSC: Peripheral Blood Progenitor Cells sau Peripheral Blood Stem Cells) care tinde să înlocuiască transplantul de măduvă osoasă (diminuarea contaminării cu celule tumorale a materialului transplantat, raport cost/beneficiu mult mai favorabil) (32, 33, 34, 35).

Datorită capacității de stimulare și activare a macrofagelor, GM-CSF joacă un rol important nu numai în creșterea toleranței la tratamentele toxice dar intervine și direct în imunitatea antitumorală. Produs de o serie de celule (fibroblaști, celule endoteliale, limfocite T și macrofage) sub acțiunea IL-1 și TNF, GM-CSF declanșează la rândul lui eliberarea mai multor citokine – G-CSF, TNF, IL-1 și GM-CSF, prin care intervin în desfășurarea reacțiilor imune (36). GM-CSF stimulează funcția celulelor granulocitare și monocitare: fagocitoza, producerea de metaboliți și produși reactivi oxidativi, citokine,

mecanismul ADCC, sinteza proteinelor de adeziune celulară (integrinele b1 și b2) și inhibă migrarea macrofagelor.

Un aspect extrem de important, descris în ultimii ani (34, 35) este interacțiunea GM-CSF cu celulele dendritice. Aceste celule imunitare diferite de macrofage, sunt caracterizate de prezența antigenului de suprafață CD34 prezent și pe celulele suse hematopoietice. Rolul principal al celulelor dendritice este prezentarea antigenului celulelor T având astfel un rol cheie în generarea limfocitelor T citotoxice CD8+. Aceste caracteristici au dus deja la studii experimentale extrem de interesante: injectarea GM-CSF este urmată de stimularea celulelor dendritice CD34 care pot fi recoltate prin leucofereză. Cultivarea lor cu limfocite T autologe și celule tumorale generează limfocite T citotoxice cu mare specificitate pentru tumora respectivă. Reinjectarea acestor celule la bolnavi ar putea avea un real efect terapeutic după cum sugerează deja multe experimente animale. Descrierea recentă a antigenelor tumorale specifice MAGE cuplată cu aceste particularități ale GM-CSF deschid posibilitățile chiar pentru obținerea unui vaccin tumoral (37).

INDUCTORI DE DIFERENȚIERE

Descifrarea mecanismelor de proliferare și diferențiere celulară au sugerat un posibil rol pentru agenții care favorizează dezvoltarea normală cum sunt retinoizii. Reprezentanții acestei clase farmacologice sunt vitamina A sau retinol și o serie de derivați dintre care cei mai importanți sunt acidul trans-retinoic și 13-cis-retinoic. Retinoizii intervin în creștere și morfogeneză, reproducere, dezvoltarea sistemului nervos și a funcției vizuale, diferențierea celulelor epiteliale, modularea funcțiilor imune (38, 39). Efectele asupra sistemului imun, ca și în cazul citokinelor, sunt multiple și pleiotropice (tabelul 7).

Efectul retinoizilor se realizează prin intermediul unui receptor nuclear specific înrudit cu receptorii pentru hormonul tiroidian T_3 și vitamina D, care controlează transcripția proteică. Studii experimentale au demonstrat că retinoizii pot induce diferențierea celulară în leucemii acute mieloide umane, neuroblastom, teratocarcinom, melanom și rabdomiosarcom unde există un blocaj al procesului de diferențiere. Prin inducerea sintezei de TGF-b, retinoizii produc inhibiția creșterii și diferențierea celulelor de adenocarcinom (plămân, sân, prostată, endometru, colon), carcinoame pavimentoase (plă-

mân, vulvă), limfoame T cutanate. Inducerea fenomenului de moarte celulară programată sau apoptosis este un alt mecanism prin care retinoizii pot avea un efect antitumoral.

Tabelul 7

Efectele retinoizilor asupra răspunsului imun

1) stimularea producerii de anticorpi
2) stimularea răspunsului imun celular mediat
3) creşterea nivelului de celule TIL
4) inducerea sintezei de prostaglandine
5) stimularea activităţii fagocitare a macrofagelor
6) creşterea expresiei receptorilor pentru IL-2
7) creşterea nivelului de celule LAK
8) creşterea limfocitelor T_H (acid 13 cis-retinoic) şi a celulelor NK (β – caroten)

Studiile clinice au confirmat rezultatele experimentale şi acidul retinoic s-a dovedit extrem de eficace în tratamentul leucemiei acute promielocitare LAP (40) şi foarte util în leucemia mielogenă cronică juvenilă, sindroamele mielodisplazice, micosis fungoides sau mielom multiplu. În tumorile solide rezultate extrem de promiţătoare au fost obţinute în cancerele pulmonare şi ORL, carcinoamele cutanate, melanom malign şi cancerul de col uterin. Rezultate favorabile au fost obţinute şi în carcinomul de prostată, neuroblastom, sarcoame de părţi moi, tumori cerebrale etc. pe lângă efectul cert profilactic în leziunile precursor ale sânului, căilor aerodigestive superioare, plămânului şi colului uterin.

Aceste efecte antitumorale multiple justifică utilizarea retinoizilor atât în tratamentul tumorilor constituite cât şi în blocarea şi reversia procesului de cancerogeneză respectiv profilaxia tumorilor primare sau a resutelor. La acest important potenţial clinic contribuie şi toxicitatea minimă (cutaneo-mucoasă, nervoasă, hepatică, musculo-scheletică) care poate fi menţinută sub control prin limitarea dozelor. Eficacitatea retinoizilor poate fi considerabil crescută, în asociere cu alţi MRB sau citostatice.

ANTICORPI MONOCLONALI

Punerea la punct a tehnologiei de obţinere a anticorpilor monoclonali AMC, oferă premizele teoretice ale unei noi metode de imunoterapie. Injectarea acestor AMC, iniţial de origine murină, a fost urmată la câteva zile

de apariţia de anticorpi umani antişoarece, fenomen care limitează eficacitatea acestei metode. O soluţie de evitare a acestui fenomen a fost creerea unor anticorpi himerici la care situl de recunoaştere este de natură murină iar regiunile constante de natură umană. Procedeul utilizat a avut însă o consecinţă mult mai importantă şi anume a dus la dezvoltarea altei strategii, de angajare şi direcţionare a CTL (T cell „targeting") prin utilizarea unor anticorpi bispecifici (bs-AMC) sau cu ajutorul unor complexe anticorp/receptor T (Ig-RT) himerice (41).

CTL produc liza unei celule numai în momentul când recunosc complexul Ag/CMH de pe suprafaţa ei. CTL poate fi totuşi indus să distrugă o celulă ţintă pe care în mod normal nu o recunoaşte printr-un procedeu numit „targeting" şi se realizează cu un AMC anti RT/CDR care activând CTL, acesta va liza celulele ţintă care posedă receptor pentru Ig-Fc. Anticorpii bispecifici, capabili să recunoască două antigene diferite, conţin un anticorp specific pentru RT şi altul pentru un TAA. Tehnologia producerii acestor anticorpi este complexă dar deja s-au publicat rezultate clinice, în special prin administrare loco-regională (42).

Un dezavantaj al bs-AMC este durata lor limitată în timp ceea ce a dus la producerea în laborator a unor receptori RT-Ig care apoi au fost transfectaţi la animale de laborator şi s-au obţinut receptori himerici stabili. Cercetările se efectuează în puţine centre care au posibilităţile materiale să susţină cercetări de o astfel de fineţe.

Anticorpii monoclonali pot fi folosiţi şi ca purtători ai unor molecule toxice (toxina difterică, imunotoxină, radioizotopi) care datorită marii lor specificităţi au posibilitatea să distrugă selectiv celulele tumorale. Şi în acest caz cercetările sunt în curs şi reprezintă apanajul unor centre care au tehnologia necesară (43, 44).

TERAPIA GENETICĂ

Terapia genetică este definită ca tehnică terapeutică în care o genă funcţională este inserată în celulele bolnavului pentru a-i corecta erori genetice înnăscute sau să inducă o nouă funcţie în celula respectivă (45, 46). Avantajul acestei forme foarte moderne de tratament este marea selectivitate care rezultă fie din tehnici specifice de introducere a genelor în celule, fie din acţiunea lor specifică (47). Succesul acestui tratament depinde esenţial de existenţa unui sistem eficient de transfer al genelor (48).

Introducerea genelor în celule se poate face prin metode biologice sau fizice. Metodele biologice utilizează ca vector retrovirusurile sau adenovirusurile, primele fiind mai performante și beneficiind deja de o tehnologie foarte bine pusă la punct (47, 48). Metodele fizice folosesc fie un procedeu de electroporare și introducere de liposomi care conțin ADN, fie un instrument cunoscut sub numele de „tun genetic" („gene gun") care poate introduce adevărate proiectile ce conțin plasmide în practic orice tip de celulă, fără să o lezeze. Introducerea se face cu un fascicul de heliu sub mare presiune care permite realizarea transferului genetic chiar in vivo.

Numeroasele, deja, posibilități de terapie genetică, pot fi diferențiate în două grupe: modificări genetice ale celulelor imuncompetente pentru a le crește eficacitatea, și modificări ale celulelor tumorale pentru a le face mai susceptibile la acțiunea acestora sau a citostaticelor.

Modificarea genetică a celulelor efectoare a urmărit inserarea în celulele TIL a genelor diverselor citokine în special TNF și IL-2. După recoltarea lor de la bolnav, celulele TIL sunt cultivate in vitro în prezența IL-2, transfectate cu gene tumoricide ca TNF și reinjectate. Primele rezultate în melanom și carcinom renal au fost impresionante (45, 46).

Modificarea genetică a celulelor tumorale s-a făcut cu gene sinucigașe, citokine sau cu diverși nucleotizi pentru anihilarea oncogenelor implicate în inducerea sau menținerea fenotipului malign.

Dintre **genele sinucigașe,** cea mai folosită este gena timidin kinazei a virusului herpes simplex care are proprietatea de a transforma compusul ganciclovir într-un metabolit foarte toxic. După transferul genei în celulele tumorale, se administrează ganciclovir care prin metabolizare va omorî celulele transfectate, respectând pe cele normale.

Introducerea diverselor **gene codificând citokine** a produs nu numai un răspuns antitumoral local, împotriva celulelor transfectate, dar și la distanță, asupra unor celule netransfectate. Printre cele mai utilizate citokine pentru transfer se numără IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, TNF, IFN γ, GM-CSF. Genele CMH clasa I au fost transfectate de asemenea cu efect de stimulare a răspunsului imun. Genele care codifică aceste citokine sunt introduse în celulele tumorale umane in vitro, cu ajutorul diferiților vectori biologici sau fizici, și după iradierea lor pentru a suprima capacitatea lor de proliferare, se injectează bolnavului. Celule tumorale reimplantate, vor fi cel puțin teoretic, mai performante în declanșarea răspunsului imun prin prezentarea celulelor efectoare a unor antigene puternic exprimate, într-un mediu favorabil, fără necroză sau fibroză.

O modalitate extrem de interesantă a terapiei genetice este blocarea mesajului declanșat și controlat de oncogene prin așa-numita *strategie „antisens"* (49, 50, 51). Expresia oncogenelor poate fi inhibată utilizând plasmide, oligonucleotide sau vectori retrovirali care vor produce un ARN „antisens" care se va transcrie pe matricea ADN („sens") și va împiedeca trans-

cripția în continuare a mesajului. Dezavantajul major al acestei strategii, de altfel foarte atrăgătoare și plină de promisiuni, este imposibilitatea de a introduce mesajul genetic „antisens" în toate celulele tumorale și prin aceasta aplicabilitatea ei este limitată la tratamentele locoregionale.

Multiplele forme ale terapiei genetice, chiar dacă cu puține excepții nu au depășit nivelul experimentărilor, denotă un potențial real pentru dezvoltarea unor tratamente foarte specifice și eficace.

ASOCIAȚII TERAPEUTICE: CITOKINE +/- CITOSTATICE

Existența unui răspuns imun la bolnavii cu cancer este unanim acceptată dar numeroase aspecte ale acestuia rămân încă neelucidate. O problemă importantă rămâne modificarea în timp a răspunsului imun a cărui monitorizare este cu totul imperfectă. În istoria naturală a multor localizări tumorale se cunosc perioade de accelerare a evoluției bolii, dar și perioade de remisiuni spontane care nu pot fi explicate decât prin interacțiuni tumora–gazdă, de natură imunologică. Tumorile sunt infiltrate, într-o măsură mai mare sau mai mică de limfocite – categoria TIL, care în marea lor majoritate sunt celule T, CD4+ sau CD8+ ceea ce sugerează că principalul răspuns al organismului este realizat prin aceste celule. Ponderea este diferită în cursul istoriei naturale pentru același bolnav: în fazele metastatice avem de multe ori o diminuare a antigenelor CMH clasa I ceea ce poate constitui un mecanism de evaziune față de acțiunea CTL. În multe situații, în contrast cu diminuarea CMH clasa I putem avea o creștere a antigenelor CMH clasa II. În ciuda acestui fapt, totuși nu există întotdeauna un răspuns imun eficient care ar putea fi explicat tot ca o „diversiune" a celulelor tumorale, aceste antigene fiind nefuncționale sau acționează ca inductor pentru limfocite T cu rol supresor.

Complexitatea mecanismelor imune explică aparenta lipsa de concordanță a rezultatelor obținute cu diferiții MRB: inevitabil acțiunea lor este limitată numai asupra unor anumite etape și folosirea lor izolată nu va putea influența întregul proces al răspunsului imun. Marele număr de citokine implicate în desfășurarea reacției imune au diverse efecte care pot fi clasificate în:

- efecte antitumorale directe;
- de stimulare a activității celulelor T, NK și macrofage;
- inducerea antigenelor CMH clasa I.

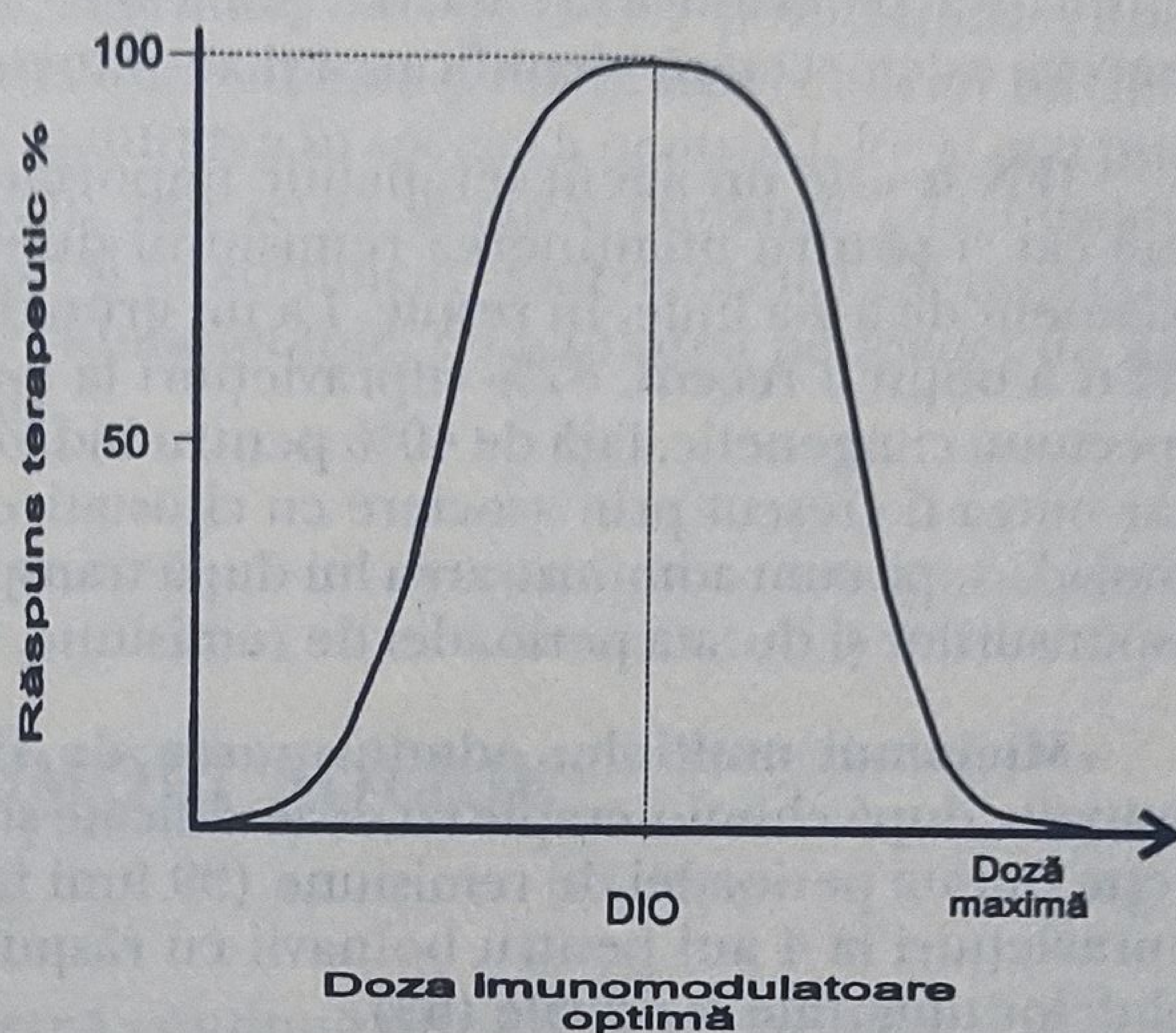


Fig. 57. Mecanismele şi ţintele de acţiune ale citokinelor.

Diversitatea efectelor citokinelor constituie argumentarea teoretică de abordare a bioterapiei cancerului, nu în mod izolat ci în diverse asocieri, fiecare citokină având un obiectiv precis (fig. 57). Eficacitatea redusă a citokinelor a fost explicată şi prin volumul tumoral important, primele studii clinice fiind făcute cu bolnavi cu boală metastatică, şi atunci s-a încercat ca prin asociere cu citostatice, să se asigure condiţii mai favorabile imunoterapiei. Rezultatele bune obţinute în diverse localizări, hematologice sau tumori solide, sugerează justeţea acestei orientări care cu siguranţă va fi dezvoltată în anii care vin. Dintre aplicaţiile recente şi mai semnificative amintim:

AFECŢIUNI HEMATOLOGICE

Leucemia mieloida cronică – LMC: este o proliferare necontrolată de neutrofile anormale caracterizate prin prezenţa unui cromosom modificat, cromozomul Philadelphia. În faza iniţială, proliferarea celulelor este lentă şi

poate fi controlată de diverşi agenţi terapeutici dar în faza de acutizare, boala devine rezistentă şi evoluează rapid spre deces. Singurul tratament curativ este transplantul de măduvă osoasă, dar până la 80% din bolnavi nu pot beneficia de aceea este necesară identificarea şi altor metode.

IFN α este un agent terapeutic important atât ca tratament de primă linie cât şi pentru menţinerea remisiunii după transplant medular, sau ca tratament de a 2-a linie, în reşute. La un grup de 322 bolnavi, tratamentul cu IFN α a obţinut recent, 87% supravieţuiri la 5 ani, corelată cu normalizarea aspectului citogenetic, faţă de 40% pentru hidroxiuree (52). Răspunsul la IFN α ar putea fi crescut prin asociere cu citostatice, hidroxiuree sau citozin-arabinozid, după cum administrarea lui după transplant medular, creşte numărul răspunsurilor şi durata perioadei de remisiune.

•**Mielomul multiplu:** administrarea de IFN α la bolnavi cu mielom multiplu, după chimioterapie cu doze ridicate şi transplant de măduvă osoasă, creşte durata perioadei de remisiune (39 luni faţă de 27, fără IFN α) cu 53% supravieţuiri la 4 ani pentru bolnavii cu răspuns complet, prin suprimarea celulelor tumorale reziduale (53).

Limfom non Hodgkin: într-un studiu al EORTC Lymphoma Cooperative group, IFN α s-a dovedit eficace în consolidarea remisiunii la bolnavii cu LNH, de malignitate mică trataţi cu ciclofosfamidă, vincristin şi prednison: supravieţuirea medie fără resută a fost de 135 săptămâni faţă de 116 săptămâni, pentru lotul fără IFN α, iar supravieţuirea la 3 ani a fost 84% şi respectiv 43% (54). Rezultate asemănătoare au fost obţinute şi în Statele Unite, cu o supravieţuire fără reşută la 2 ani de 71% pentru bolnavi trataţi cu IFN α şi o combinaţie citostatică (ciclofosfamidă, vincristin, prednison, doxorubicin) faţă de 46% pentru chimioterapie singură (55).

Anemia acută promielocitară LAP: reprezintă cca 10% din leucemiile acute non-limfoblastice, LAP este caracterizată de proliferarea excesivă a promielocitelor, un stadiu intermediar de diferenţiere al granulocitelor. Acest blocaj în diferenţiere este asociat unei translocaţii specifice între cromozomii 17 şi 15 care corespunde unei anomalii a genei care codifică receptorul pentru acidul retinoic – RAR (56, 57). Administrarea acidului transretinoic a obţinut o rată între 84 şi 91% răspunsuri complete, superioare chimioterapiei (citozin-arabinozid cu idarubicin sau doxorubicin) şi cu toxicitate mult redusă. Asocierea cu IFN α are un efect sinergic prin inducerea expresiei RAR, posibilitate terapeutică în curs de testare şi pentru tumorile solide, care deşi au un RAR normal, acesta este inhibat de retinoizi endogeni (56).

Sindroame mielodisplazice SMD: caracterizate de o hematopoieză deficitară, bolnavii se prezintă cu semne de anemie şi au un risc crescut de

infecții, hemoragii și transformare în leucemie acută mieloidă. Până în prezent, tratamentul este practic numai simptomatic, de combatere a anemiei trombocitopeniei și infecțiilor. Administrarea de G-CSF și acid trans-retinoic care favorizează, fiecare în parte, diferențierea și măturarea celulelor mieloide s-a dovedit sinergică și a dus la maturarea în special a neutrofilelor și mai puțin a celorlalte linii celulare. Prin asocierea acestor citokine cu citostatice (fludarabine, citozin-arabinozid și doxorubicin) s-au obținut 72% răspunsuri complete față de 47% pentru chimioterapie, cu scurtarea perioadei de neutropenie de la 35 la 24 zile (56).

TUMORI SOLIDE

Melanom malign: creșterea continuă într-un ritm alarmant și absența unor tratamente eficace, fac din melanom una din cele mai actuale și mai critice probleme ale oncologiei. Lipsa de răspuns la citostatice a determinat utilizarea diverselor citokine încă de la începutul aplicării lor clinice și rezultatele obținute au fost similare, cu cca 20–25% răspunsuri după IFN α sau IL-2. Asocierea chimioterapiei cu citokine este sinergică și rezultatele au crescut în stadii metastatice ale bolii la 54–83% din care 13 până la 25% sunt complete (58). Rezultatele sunt impresionante pentru acest tip de tumoră și diverse studii au demonstrat efectul sinergic al cisplatinumului care acționează asupra monocitelor care eliberează IL-1 și TNF. Eficacitatea cisplatinumului în combinație cu IFN α și IL-2 este atât de mare încât asocierea altor citostatice apare inutilă în momentul de față (tabelul 8) (58, 59, 60, 61). Rezultatele promițătoare obținute cu IFN α au determinat acum extinderea indicațiilor

Tabelul 8

Rezultate terapeutice în melanomul malign

Autor	Tratament	Număr bolnavi	Răspuns complet %	Răspuns global %(RC+RP)
Legha 1992	CVD/IL-2 + IFN α	30	20	57
Richards 1992	CBDT/IL-2 + IFN α	74	15	55
Khayat 1993	C/IL-2 + IFN α	39	13	54
Hamblin 1991	CD/IL-2 + IFN α	12	25	83

C: cisplatin; V: vinblastin; D: DTIC; B: carmustin, T: tamoxifen IFN α, IL-2

sub forma imunoterapiei adjuvante la bolnavii operați, mai multe studii fiind în curs de desfășurare (62).

Carcinomul renal: prognosticul acestor bolnavi este foarte rezervat datorită metastazării frecvente și lipsei de răspuns la chimioterapie. IFN α și IL-2 sunt considerate ca tratament de elecție dar rata răspunsurilor nu depășește 15% de aceea s-a încercat ameliorarea rezultatelor prin asociere cu citostatice. Combinația cel mai mult studiată este 5 FU/IL-2 + IFN α. Majoritatea studiilor, în majoritate de faza II, au obținut până la 11% răspunsuri complete și 49% răspunsuri obiective totale (complete și parțiale). Rezultatele de până acum, care se compară favorabil cu schemele cele mai agresive de chimioterapie, justifică organizarea în continuare a unor studii de faza III (63, 64).

Carcinoame digestive: gravitatea prognosticului, a determinat și pentru aceste tumori diverse studii pentru evaluarea rolului citokinelor în asociere cu citostatice. Majoritatea combinațiilor, studii de faza II, au utilizat combinații de 5 FU cu leucovorin și IFN α.

Diversele trialuri care au obținut în jur de cca 36% răspunsuri, au testat în primul rând toleranța, dozele optime și modul de administrare, cu rezultate încă neconcludente (65, 66).

Carcinoame pavimentoase spinocelulare (cutanate, ORL, de col uterin, pulmonare): plecând de la efectul comun de inducere a diferențierii celulelor epiteliale cu reversia fenotipului malign, combinația IFN α și retinoizi a fost testată în tratamentul unor diverse tumori epiteliale (67). În cancere cutanate, răspunsurile obținute au fost peste 80%, cifra similară celor obținute cu combinații de citostatice, cu cisplatinum sau 5 FU (68). În displaziile agravate de col uterin, asocierea IFN α sau β, în asociere cu acid cis retinoic a permis regresiunea modificărilor celulare cu revenirea la fenotipul normal (69). Probabil administrarea retinoizilor cu sau fără IFN, va fi o cale eficientă de profilaxie a resutelor în aceste localizări în care frecvența dublelor localizări este apreciabilă.

Considerate în planul rezultatelor clinice evaluate prin numărul de vindecări sau supraviețuiri la cinci ani, rezultatele tratamentelor biologice sunt încă modeste dar rezultatele deja obținute, sugerează un extraordinar potențial de dezvoltare în viitor, când vom fi mai stăpâni pe cunoașterea diferitelor aspecte ale mecanismelor imune. Ca și celelalte metode de tratament, chirurgie, chimioterapie sau radioterapie, nici tratamentele biologice nu vor putea rezolva singure complexele aspecte ale bolii și viitorul va aparține integrării tuturor acestor metode într-o abordare multidisciplinară, adaptată particularităților evolutive de moment ale raportului tumoră-gazdă.

BIBLIOGRAFIE

1. GHILEZAN N.: *Oncologie generală*, Ed. Medicală Bucureşti, 1992.
2. DIETRICH PY., FARACE F., CAIGNARD A.şi col.: *L'immunothérapie anticancéreuse: bases immunologiques, réalité et espoirs*, Bull Cancer 80, 584–600, 1993.
3. RUIZ-CABELLO F., KLEIN E., GARRIDO F.: *MHC antigens on human tumors*, Immunol Letters 29, 181–190, 1991.
4. MONACO J.J.: *A molecular model of MHC class-I-restricted antigen processing*, Immunol Today, 13, 173–178, 1992.
5. NEEFJES J.J., PLOEGH H.L.: *Intracellular transport of MHC class II molecules*, Immunol Today, 13, 179–184, 1992.
6. LEVIN I., KLEIN T., GOLDSTEIN J. şi col.: *Expression of class I histocompatibility antigens in transitional cell carcinoma of the urinary bladder in relation to survival*, Cancer 68, 12: 2591–2594, 1991.
7. ROMAGNANI S.: *Human Th1 and Th2: doubt no more*, Immunol Today 12: 256–257, 1991.
8. ROMAGNANI S.: *Type 2 helper cells: role in genesis of allergy and regulation of their development*, Immunol Today, 1: 29–33, 1993.
9. SEWELL W.A.: *Symposia reports – 2nd International Congress on Cytokines: Basic principles and clinical applications*, Florence, 23–25 March 1992, Immunol Today, 1: 38–41, 1993.
10. Van Der BRUGGEN P., TRAVERSARI C., CHOMEZ P. şi col.: *A gene encoding an antigen recognized by cytolitic T Lymphocites on a human melanoma*, Science 254: 1643–1647, 1991.
11. BOON T., Van Der BRUGGEN P., LURQUIN C. şi col.: *Genes coding for tumor rejection antigens: perspectives for cancer immunotherapy*, The 7th European Conference on Clinical Oncology, Jerusalem, 14–18 November 1993, p. S1: 2.
12. SACHS L.: *Growth factors in cancer therapy: the control of hematopoiesis as a model system*, The 7th European Conference on Clinical Oncology, Jerusalem, 14–18 November 1993, p. S3: 8.
13. TALMADGE J.E.: *Development of immunotherapeutic strategies for the treatment of malignant neoplasms*, Biotherapy 4: 215–236, 1992.
14. SELBY P., PITTMAN K.: *Renal cell carcinoma: the role of interferons*, Consultant series 2, 4, 1993.
15. GRANDER D., XU B., EINHORN S.: *Cytotoxic effect of interferon on primary tumour cells: Studies in various malignancies*, Europ. J. Cancer, 14, 14: 1940–1943, 1993.
16. HANNIGAN G.E., WILLIAMS B.R.G.: *Signal transduction by interferon-alpha through arachidonic acid metabolism*, Science, 251: 204–207, 1991.
17. ESCUDIER B.: *Cytokines et tumeurs solides*, Lettre Cancerol. 1, 2: 104–109, 1992.
18. TURSZ T.: *L'interleukine 2: place actuelle et avenir en cancérologie*, Presse Méd: 20, 6: 241–242, 1991.
19. TRIEBEL T., HERCEND T.: *L'interleukine 2 en cancérologie*, Rev. Prat 8: 722–727, 1991.
20. ROSENBERG S.A.: *Adoptive cellular therapy: clinical applications*, in Biological Therapy of Cancer, editori De Vita V, Hellman S., Rosenberg S.A., ed; J.B., Lippincott, New York, 1991.
21. SQUADRELLI-SARACENTO M., RIVOLTINI L., CANTÙ G. şi col.: *Local adoptive immunotherapy of advanced head and neck tumors with LAK cells and interleukin-2*, Tumori, 76, 566-571, 1990.
22. SCHREIBER H., GRESSLER V.H., TENG M.N. şi col.: *Cytokines as efectors in tumor immunity*, Immunology and Allergy Clinics of N. America, 10; 4: 747–763, 1990.
23. LE JEUNE F.: *TNF treatment for melanoma and soft tissue sarcomas of the limbs*, Honorary Award, ECCO 7, Jerusalem, november 1993.
24. RYBAK M.E.: *Interleukine 4: premiers essais de phase I*, Actualités thérapeutiques JAMA H., Mars 1993, 6–8.

25. BANCHEREAU J.: *Interleukine 10: les premières pistes,* Actualités thérapeutiques JAMA H., Mars 1993, 8.
26. TRILLET-LENOIR V., ARPIN D., BRUNE J.: *Optimal delivery of dose in cancer chemotherapy with the support of haematopoietic growth factors,* Europ J. Cancer 29 A, 5: S14–S16, 1993.
27. BRONCHUD M.H.: *The importance of dose: lymphomas as a model of chemosensitive malignancies,* Europ J. Cancer 29A, 5: S17–S22, 1993.
28. SCHMIDBERGER H., HESS C.F., HOFFMANN W. şi col.: *Granulocyte colonystimulating, factor treatment of leucopenia during fractionated radiotherapy,* Europ. J. Cancer 29A, 14: 1927–1931, 1993.
29. GIANNI A.M., BREGNI M., SIENA S. şi col.: *Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor reduces hematologic toxicity and widens clinical applicability of high dose cyclophosphamide treatment in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma,* J. Clin. Oncol. 8: 768–778; 1990.
30. POUILLART P.: *Utilisation du GM-CSF après autogreffe de moelle,* Actualités thérapeutiques JAMA H., Mars 1993: 4.
31. LINK H., NICOLAY U., HOLLDACK J., *GM-CSF after ABMT for acute lymphoblastic leukaemia and malignant lymphoma,* Immunol Today, 2: 10–15, 1993.
32. KANZ L., BRUGGER W., MERTELSMANN R.: *Haematopoietic growth factors and peripheral blood stem cells as supportive agents in dose intensification,* Europ J. Cancer 29A, 5: S23–S26, 1993.
33. REIFFERS J.: *PBPC support after high-dose chemotherapy,* Helix, 2, 3: 20–27, 1993.
34. GERHARTZ H.H.: *Utilisation de GM-CSF dans les protocoles de chimiothérapie intensive,* Actualités thérapeutiques JAMA H., Mars 1993: 2–3.
35. SHERIDAN W.P.: *Cytokines in peripheral blood stem cell harvesting in malignant disease,* Immunol Today 2: 16–19, 1993.
36. Van FURTH R.: *Le GM-CSF stimule l'activité antitumorale des macrophages,* Actualités thérapeutiques JAMA H., Mars 1993: 1.
37. LENOBLE M.: *Du neutrophile à la cellule dendritique,* Actualités thérapeutiques, JAMA H., Mars 1993: 9.
38. SMITH M.A., PARKINSON D.R., CHESON B.D., FRIEDMAN M.A.: *Retinoids in cancer therapy,* J. Clin. Oncol. 10,5: 839–864, 1992.
39. DESCHAMPS J.: *Mammalian homeobox genes in normal development and neoplasia,* Critical Rev. Oncogenesis 3, 1,2: 117–173, 1992.
40. TRAYNER I.D., FARZANEH F.: *Retinoid receptors and acute promyelocytic leukaemia,* Eur. J. Cancer 294,14: 2054, 1993.
41. BOLHUIS R.L.H., STURM E., BRAAKMAN E.: *T-cell targeting in cancer therapy,* Cancer Immunol Immunth., 34: 1–8, 1991.
42. NITTA T., SATO K., YAGITA H. şi col.: *Preliminary trial of specific targeting therapy against malignant lymphoma,* Lancet, 335: 368–370, 1990.
43. BRADY L.W., MARKOE A.M., WOO D.V.: *The present and future role of monoclonal antibodies in the management of cancer,* Acta Radiol. Portuguesa 2,6: 85–90, 1990.
44. HALL W.A., FODSTAD Q.: *Immunotoxins and central system neoplasia,* J. Neurosurg. 76: 1–12, 1992.
45. ROSENBERG S.A.: *The immunotherapy and gene therapy of cancer,* J. Clin. Oncol. 10, 2: 180–199, 1992.
46. ROSENBERG S.A.: *Immunotherapy and gene therapy of cancer,* Cancer Res. 51: 5074s-5079s, 1991.
47. TANG D.C., CARBONE D.P.: *Potential application of gene therapy to lung cancer,* Semin. Oncol 20, 4: 368–374, 1993.
48. EINERHAND M.P.W., VALERIO D.: *Gene transfer into hematopoietic stem cells: prospects for human gene therapy,* in *Stem cells in hematopoiesis,* sub red. Muller-Sieburg C., Visser J., Torock-Storb B., Storb R., Sopringer Verlag Berlin, 1992, pp: 217–235.

49. HELENE C.: *Rational design of sequence-specific oncogene inhibitors based on antisense and antigene oligonucleotides*, Europ. J. cancer 27, 11: 1466–1471, 1991.
50. NECKERS L., WHITESELL, ROSOLEN A., GESELOWITZ D.A.: *Antisense inhibition of oncogene expression*, Critical Rev. Oncogenesis (1,2): 175–231, 1992.
51. HELENE C.: *Control of oncogene expression by sense and antisense oligonucleotides.* Non-sense or reality?, ECCO 7, Jerusalem november, S3/6.
52. ZUFFA E.: *A prospective study of interferon-alfa-2a vs chemotherapy in chronic myeloid leukaemia: karyotypic response and survival*, ASCO 29, Orlando, May 1993, abstract 980.
53. OZER H.: *Biotherapy in oncology*, Congress Report, ASCO 29, Orlando, May 1993.
54. HAGENBEEK A., CARDE P., SOMERS R. şi col.: *Maintenance of remission with human recombinant interferon-alfa-2a (Roferon-A) in patients with stages III and IV low malignant non-Hodgkin's lymphoma.* Results from a prospective, randomized, phase III clinica trial in 331 patients, Blood, 80, 10: 1–2, 1992.
55. SMALLEY R.V., ANDERSEN J.W., HAWKINS M.J. şi col.: *Interferon-alpha combined with cytotoxic chemotherapy for patients with non-Hodgkin's lymphoma*, N. Engl. J. Med. 327: 1336–1341, 1992.
56. WELTE K.: *Biotherapy in haematology*, Congress report, American Society of hematology, Anaheim, December 1992, pp: 8–10.
57. LIPPMAN S.M., GLISSON B.S., KAVANAGH J.J. şi col.: *Retinoic acid and interferon combination studies in human cancer*, Eur J. Cancer 29A, 5: S9–S13, 1993.
58. BUZAID A., LEGHA S.S.: *Interferon and IL-2 in combination with chemotherapy for the management of melanoma*, Immunol Today 2: 6–9, 1993.
59. KHAYAT D., BOREL C., TOURANI J.M. şi col.: *Combined immunochemotherapy-Roferon-A (interferon-alfa-2a) proleukin (interleukin-2), cisplatin – as a promising treatment approach for metastatic melanoma*, ESMO 17, Lyon, November 1992.
60. KHAYAT D., ANTOINE E., RIXE O. şi col.: *Chemoimmunotherapy of metastatic malignant melanoma: the Salpêtrière Hospital (SOMPS) experience*, Eur J. Cancer 29A, 5: S2–S5, 1993.
61. GARBE C., KREUSER E.D., YOUBOULIS C.C. şi col.: *Combined treatment of metastatic melanoma with interferons and cytotoxic drugs*, Semin Oncol 19, 2, 4: 63–69, 1992.
62. HERSEY P.: *Cytokines in melanoma therapy*, Immunol Today 2: 6–11, 1993.
63. ATZPODIEN J., KIRCHNER H., HANNINENEL şi col.: *Interleukin-2 in combination with interferon-a and 5-fluorouracil for metastatic renal cell cancer*, Eur J. Cancer 29 A, 5: S6–S8, 1993.
64. SELBY P., PITTMAN K.: *Renal cell carcinoma: the role of interferons*, Consultant series: the role of interferons Hoffman-La Roche, 1993.
65. WADLER S., LEMBERSKI B., ATKINS M. şi col.: *Phase II trial of fluorouracil and recombinant interferon alfa-2a in patients with advanced colorectal carcinoma:* an Eastern Cooperative Oncology Group Study, J. Clin. Oncol. 9, 10: 1806–1810, 1991.
66. WADLER S.: *Colorectal carcinoma*, Consultant Series Hoffman-La Roche, 2, 2, 1993.
67. LIPPMAN S.M., PARKINSON D.R., ITRI L.M. şi col.: *13-cis-retinoic acid and interferon alfa-2a: effective combination therapy for advanced squamous cell carcinoma of the skin*, J. Natl. Cancer Inst. 84, 235–241, 1992.
68. LIPPMAN S.M., KAVANAGH J.J., PAREDES-ESPINOZA M. şi co.l: *13-cisretinoic acid plus interferon alpha 2a in locally advanced squamous cell carcinoma of the cervix*, J. Natl. Cancer Inst. 85, 499–500, 1993.
69. RINALDI D.A., LIPPMAN S.M., BURRIS H.A. şi col: *Phase II study of 13-cisretinoic acid and interferon a2a in patients with advanced squamous cell lung cancer*, Anti-Cancer Drugs, 4: 33–36, 1993.

MECANISME IMUNOPATOGENE ÎN BOLILE INFECȚIOASE

Prof. dr. MIHAIL DRAGOMIRESCU
membru titular al Academiei de Științe Medicale

Clinica de boli infecțioase
Universitatea
de Medicină și Farmacie
Timișoara

ABREVIERI

AAc: autoanticorpi
Ac: anticorp
Ag: antigen
AGLCL: acizi grași cu lanț carbonic lung
C: complement (C1, C1q, C3, C5...)
CI: complexe imune
CIC: complexe imune circulante
CID: coagulare intravasculară diseminată
EB: (virus) Epstein Barr
ESP: factor de stimulare a eozinofilelor
Fc: receptor pentru regiunea Fc a IgG
GNA: glomerulonefrită acută
HLA: antigene de histocompatibilitate
HS: hipersensibilitate
HSI: hipersensibilitatea întârziată
IFN: interferon
LiB: limfocite B
Li BE: limfocite producătoare de IgE
LiT: limfocite T
LiTC (sau TC): limfocite T citotoxice
LiTD (sau TD): limfocite T „delayed"
LiTH (sau TH): limfocite T „helper"
LiTK (sau TK): limfocite T „killer"
Mf: macrofag
MM: masă moleculară
MMc: mastocitele din mucoase
PESS: panencefalită sclerozantă subacută
PMN: polimorfonucleare
RAA: reumatism articular acut
VCM: virus citomegalic
VCML: virusul coriomeningitei limfocitare
VIH: virusul imunodeficienței umane
VRS: virus respirator sincițial

INTRODUCERE

În marea lor majoritate, bolile infecțioase se manifestă cu frecvența cea mai ridicată sub forma clinică medie (boala infecțioasă ciclică). Principalul factor care stă la baza acestei exprimări e reprezentat de reactogenitatea fiziologică (medie sau în jurul mediei) a mecanismelor specifice sau nespecifice ale gazdei. Această alternativă evolutivă nu solicită – în genere – particularizări importante în actul diagnostic și terapeutic.

Există însă unele situații în care dinamica infecției – determinată de agenți diferiți – îmbracă unele aspecte deosebite, ca de pildă: evoluție prelungită, ondulantă, recidivantă sau severă, complicații diverse, vindecare nesterilă cu sechele sau cronicizare. În această evoluție particulară sunt implicați o multitudine de factori, între care patogenitatea, virulența și toxigenitatea germenului în cauză joacă un rol important. Alteori însă, pe primul plan se situează răspunsul neadecvat al sistemului imun, răspuns care poate fi deficitar (imunodepresie, imunosupresie) sau dimpotrivă la intensitate mare (imunohiperergie, imunoagresiune). Prezența acestor reacții disimune marchează – de altfel – hotarul dintre imunologia și imunopatologia infecțioasă.

Imunopatologia infecțioasă include acele mecanisme care, prin gradul lor de exprimare supra – sau subdenivelat în comparație cu cele normale, determină infecții cu manifestări disimune. În funcție de diversele entități imunopatologice, mecanismele disimune pot fi determinate de autoanticorpi ce reacționează încrucișat cu celulele gazdei, de complexe imune agresive, de citotoxicitate B și T – mediată, de reacții de hipersensibilitate etc.

Răspunsul disimun poate fi generat de factori genetici (sau imunogenetici), de efecte inductoare directe ale agentului patogen, de terenul reac-

O altă premisă, utilă în descifrarea particularităţilor imunopatologiei infecţioase, este reprezentată de cunoaşterea mecanismelor reactogene la un grup de agenţi patogeni (tabelul nr. 2)

Tabelul 2

Relaţia dintre răspunsul imun şi etiologiile infecţioase

Tipul de răspuns imunologic indus predominant	Agenţi etiologici, entităţi (exemplificare)
Fagocitoza (corelată cu diverse mecanisme imune)	Streptococus pneumoniae Neisseria meningitidis Neisseria gonorhoeae Mycoplasma pneumoniae Unele enterobacterii Gram-negative
Imunitatea umorală (anticorpică)	Tetanosul Difteria Botulismul Infecţia cu Clostridium perfringens Infecţia streptococică Unele enterobacterioze şi enteroviroze
Imunitatea celulară	Tuberculoza, Lepra Tularemia, Histoplasmoza Majoritatea virozelor Infestaţii cu metazoare
Cooperare între imunitatea umorală şi celulară ± fagocitoza	Malaria Luesul Leptospirozele Infecţii cu myxo- şi paramyxovirusuri, Togavirusuri (şi alte virusuri encefalitogene) Infecţia tifică

Sunt necesare însă unele completări, în vederea înţelegerii corecte a datelor incluse în tabelul 2:

– La o analiză mai complexă a cunoştinţelor actuale, este practic imposibil de a cita o entitate infecţioasă în care se identifică doar un singur mecanism imunologic:

– După datele recente, fagocitoza, înţeleasă ca proces dinamic, nu mai poate fi acceptată ca mecanism nespecific, deoarece:

● În etapa de contractare a celulelor endoteliale, când se creează interspaţii în peretele capilarelor prin care trec leucocitele, prin diapedeză, sunt necesare mai multe produse ce decurg din clivajul complementului (C3a, C5a);

● În calitate de efectori majori ai inflamaţiei, PMN acţionează cooperant cu complexele imune şi cu fragmentele C3a şi C5a ale complementului

în situsurile în care au loc reacțiile Ag-Ac; dacă imunocomplexele se depun pe membranele bazale vasculare, sub acțiunea enzimelor lizozomale eliberate de fagocite se poate ajunge la necroză fibrinoidă.

1.2. REACTOGENITATEA IMUNĂ ÎN VIROZE

Modalitatea de răspuns normo- sau disimun în infecțiile virale depinde esențial de mecanismele care joacă rolul principal în fiecare etapă a infecției. Făcând abstracție de unele particularități etiologice și de structură antigenică, în viroze se pot delimita trei stadii:

a) Stadiul **invaziei** virale, în care rolul principal e jucat de Interferoni și de IgAs;

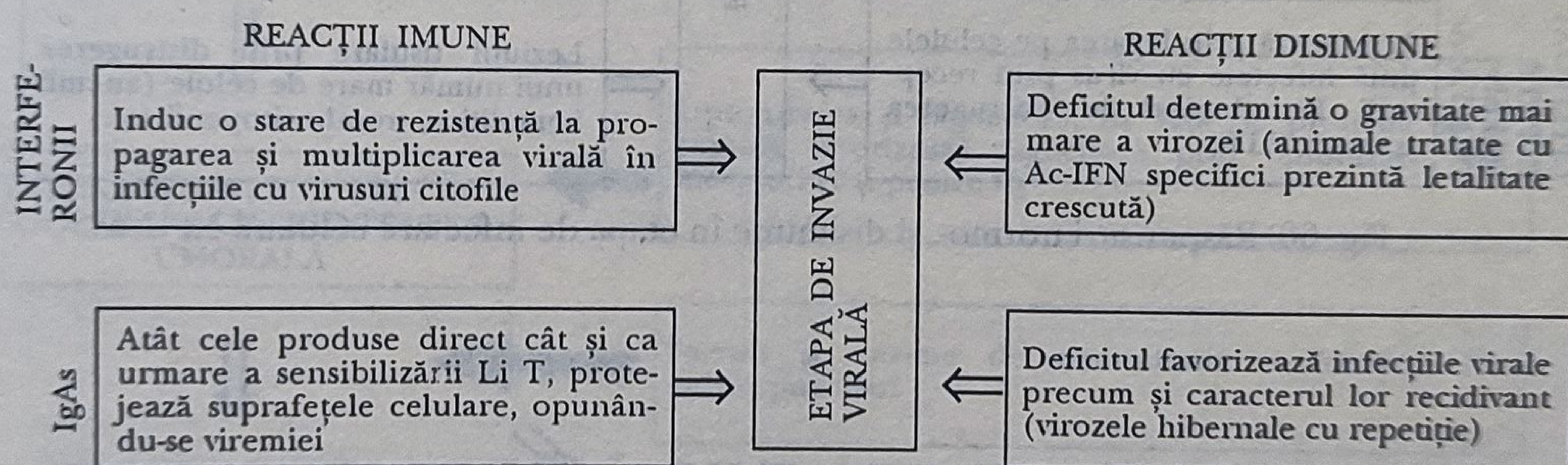


Fig. 58. Răspunsuri normo- și disimune în etapa de invazie virală.

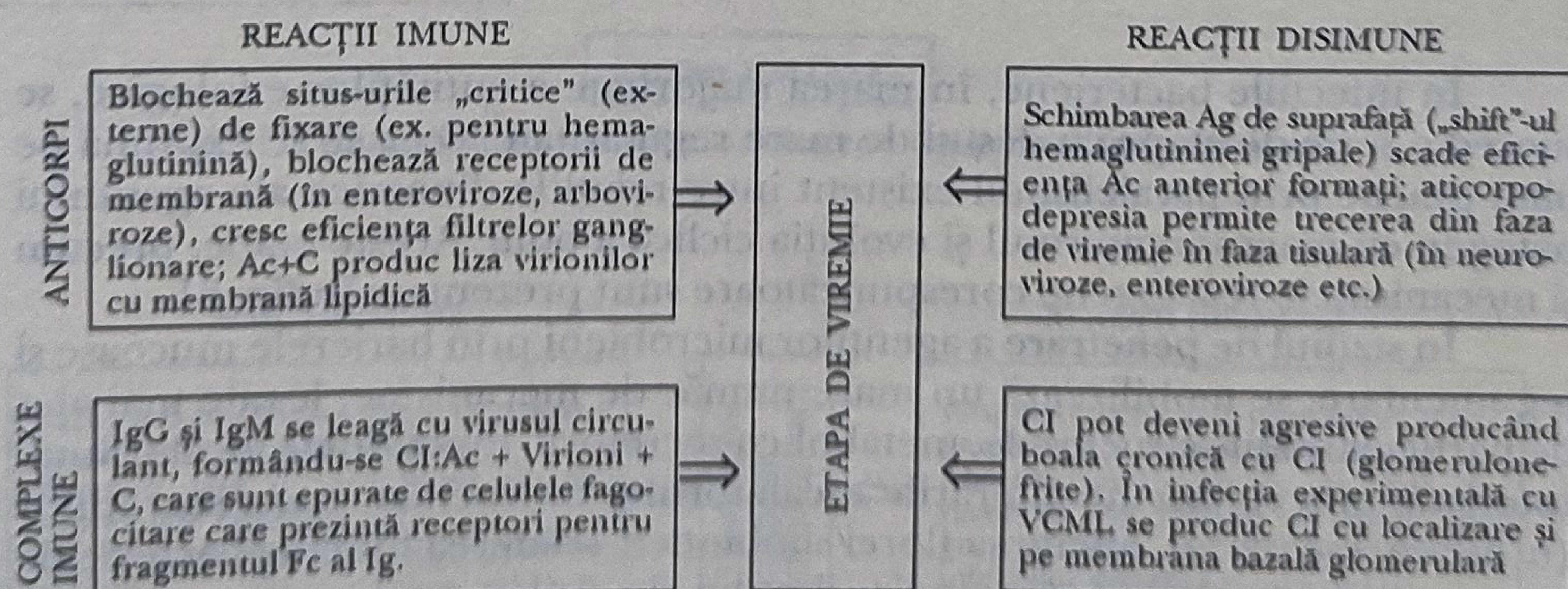


Fig. 59. Răspunsuri normo- și disimune în etapa de viremie.

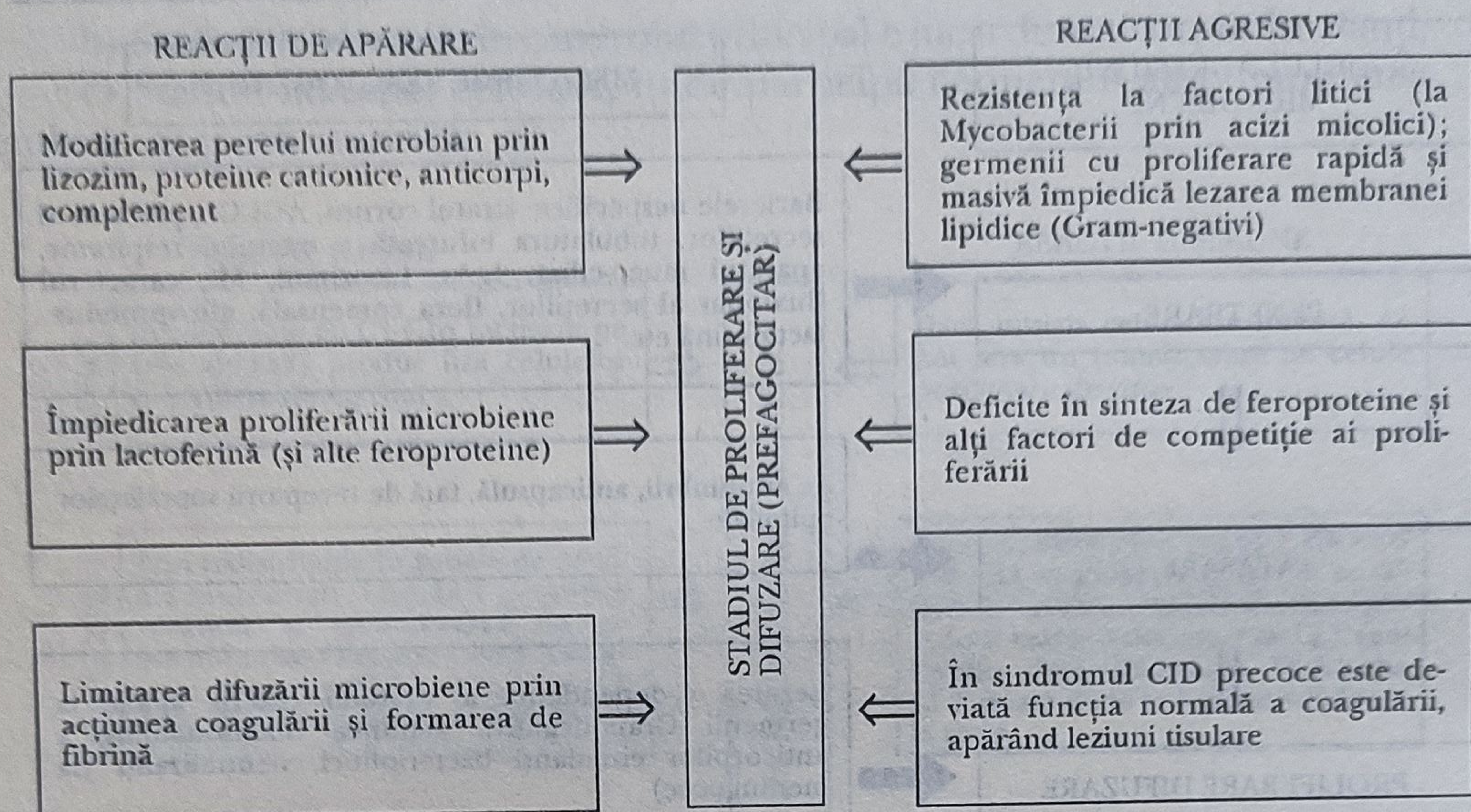


Fig. 63. Reacții de apărare și agresive în etapa de proliferare și difuzare microbiană.

Sensibilitatea peretelui microbian la factorii litici este dependentă mai ales de structura biochimică a acestuia.

Tabelul 3

Germeni	Structura externă	Vulnerabilitate la
GRAM-POZITIVI	Peptidoglicani și acizi teihoici (perete) Membrana	Enzime lizozomale Lizozim Peniciline
GRAM-NEGATIVI	Stratul dublu extern lipopolizaharidic Peptidoglicani Membrana	Proteine cationice Imunitate C-mediată (activare pe cale alternă)
MYCOBACTERII	Acizi micolici Arabinogalactan Peptidoglicani Membrana	Activarea C pe cale alternă Activarea macrofagelor Activarea policlonală a celulelor B (T-dependent și T-independente)
SPIROCHETE	Axistil Lipoproteine Peptidoglicani Membrana	Modificări de pH Anticorpi specifici, β-lactamine

În etapa de **interacțiune cu PMN** (fagocitoza, cooperantă cu imunitatea umorală), factorii care alterează procesul defensiv sunt numeroși, deoarece trebuiesc luați în considerație nu numai cei care acționează direct asupra chemotaxiei, imunoaderenței, efectului bactericid și fagocitolitic dar și cei care influențează diverșii activatori (cooperanți), cum sunt: leucotrienele, prostaglandinele, produșii de degranulare mastocitară, C (activat pe cale alternă), complexele Ag-Ac, receptorii Fc ai fagocitelor etc. De aici rezultă și numărul mare al condițiilor particulare care pot modifica sistemul fagocitar (nutrițional-metabolice, toxice, infecțioase, farmacologice, imunologice, de teren) (4).

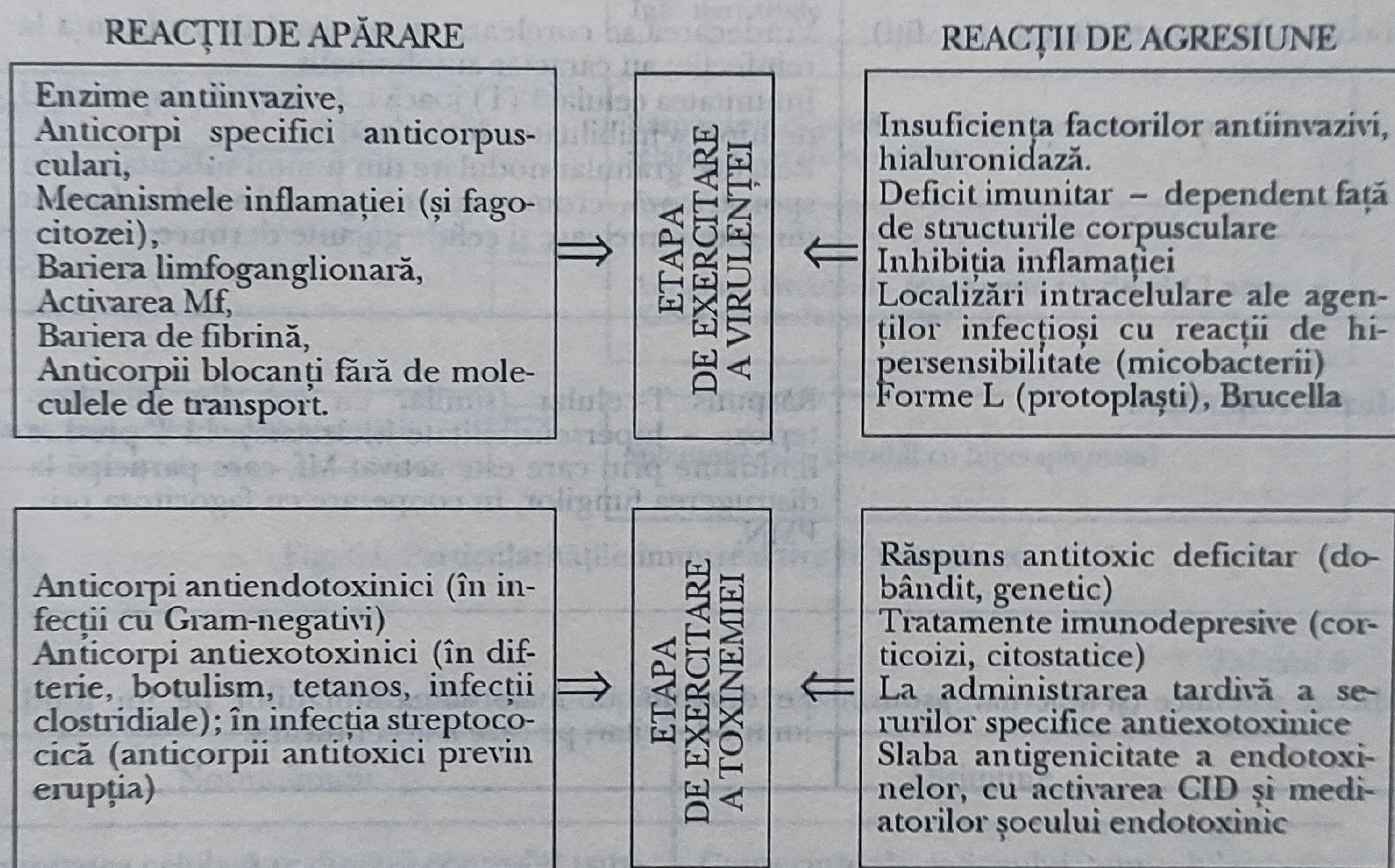


Fig. 63. Reacții de apărare și agresive în bacterioze în etapele de exercitare a virulenței și toxemiei.

1.4. RĂSPUNSUL IMUNITAR ÎN MICOZE

Răspunsul normo- sau disimun în infecțiile micotice este dependent de conjunctura reactogenă a terenului și de gradul de penetrare a fungilor, stabilindu-se astfel contacte diferite cu aparatul și mecanismele imunogenetice (inclusiv cu efectorii imuni). În acest sens, se pot delimita patru grupe principale.

Tabelul 4

Reacții imune în micoze

Grup de infecții fungice	Particularități de răspuns imun
Micoze superficiale (dermatofitoze)	Prin localizarea la structurile keratinizate ale pielii și fanerelor (ungii, păr), se stabilesc slabe impulsuri imune; rezultă infecții recidivante, cronice.
Micoze subcutanate (fungi saprofiți)	Vindecarea se corelează cu un grad de rezistență la reinfecție; au caracter autolimitativ. Imunitatea celulară (T) joacă rol esențial, răspunzând de hipersensibilitatea întârziată. Reacțiile granular-nodulare din țesutul subcutanat (în sporotricoză, cromomicoze), granulomul e format din mononucleare și celule gigante dermice.
Micoze respiratorii	Răspuns T-celular (similar cu cel din micobacterioze – hipersensibilitate întârziată). Li T produc limfokine prin care este activat Mf, care participă la distrugerea fungilor, în cooperare cu fagocitoza prin PMN.
Micoze sistemice (și ubicvitare)	Se dezvoltă în majoritatea situațiilor pe un fond imunodeficitar, pe care îi accentuează.

1.5. REACTOGENITATEA IMUNĂ ÎN PARAZITOZE

În bolile parazitare, răspunsul imunitar este dependent de un mare număr de factori, după cum rezultă din fig. 64.

Rezultă deci că o secvențializare pe etape (așa cum s-a făcut în viroze și bacterioze) nu este posibilă, ca urmare a faptului că individualizările sunt dominante asupra generalizărilor. Din această cauză s-a preferat drept criteriu modalitatea de răspuns (B sau T dependent).

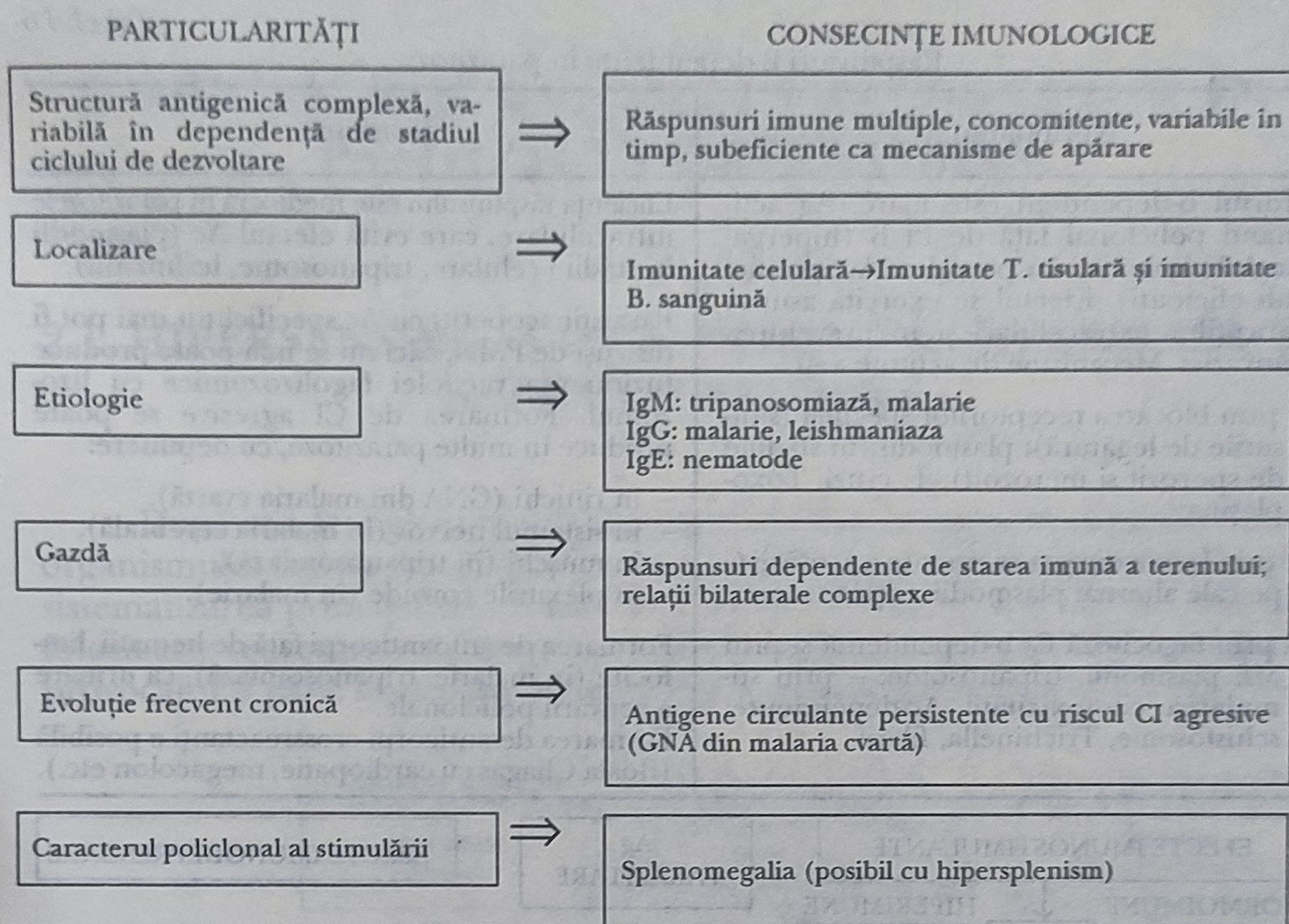


Fig. 64. Particularitățile imunreactive în parazitoze.

Tabelul 5

Răspunsuri T-dependente în parazitoze

Normoimune	Disimune
Imunitatea celulară realizează controlul parazitemiei și reduce proliferarea parazitului. Limfocitele T activate specific eliberează limfokine care: – activează Mf favorizând formarea de receptori Fc și C_3; – stimulează șuntul hexozomonofosfaților și unii metaboliți oxigenați (eliberarea de peroxid și superoxid de H) care fac Mf mai toxic pentru paraziții (T. cruzi, Toxoplasma, filarii, plasmodii, schistosome). Imunitatea celulară întârziată duce la formarea de granuloame, iar factorii fibrogeni eliberați de Mf duc la incapsulări fibroase, cu reducere consecutivă a agresivității parazitului.	Consecințe ale deficitului imuncelular (prin hipofuncție timică, imunodepresie medicamentoasă sau prin iradiere): – scăderea rezistenței față de tripanosome, plasmodii, – persistența parazitului (în țesuturi, limfă) – reacții autoimune T-mediate prin limfocite T cross-reactante (în tripanosomiază față de celulele cardiace parazitate). Granuloamele mari, multiple, pot duce la scăderea celulelor parenchimatoase active. Invers, în caz de deficit T, nu se mai produc granuloame; scăzând protecția imună, produsele toxice parazitare difuzează și produc leziuni.

Tabelul 6

Răspunsuri B-dependente în parazitoze

Normoimune	Disimune
Efortul B-dependent este mare, Ag acţionând policlonal faţă de Li B (hipergamaglobulinemie, dar parţial cu Ac specifici slab eficienţi). Efectul se exercită asupra paraziţilor extracelulari şi în prevenirea reinvaziei. Mecanisme de acţiune a Ac: – prin blocarea receptorilor specifici (situsurile de legătură): plasmodii (în stadiile de sporozit şi merozoit), T. cruzi, Toxoplasma; – prin lezare directă ca urmare a activării C pe cale alternă: plasmodii, tripanosome; – prin fagocitoză C_3 b-dependentă şi prin Mf: plasmodii, tripanosome; – prin stimularea citotoxicităţii Ac-dependente: schistosome, Trichinella, filarii.	Eficienţa răspunsului este mediocră în parazitozele intracelulare, care evită efectul Ac (plasmodii în stadii i-celulare, tripanosome, leshmanii). Paraziţii acoperiţi cu Ac specifici nu mai pot fi distruşi de PMN, căci nu se mai poate produce fuzionarea vacuolei fagolizozomice cu lizozomul. Formarea de CI agresive se poate produce în multe parazitoze, cu depunere: – în rinichi (GNA din malaria cvartă), – în sistemul nervos (în malaria cerebrală), – în muşchi (în tripanosomiază), – în plexurile coroide (în malarie). Formarea de autoanticorpi faţă de hematii, limfocite (în malarie, tripanosomiază), ca urmare a activării policlonale. Formarea de anticorpi crossreactanţi e posibilă (Boala Chagas cu cardiopatie, megacolon etc.).

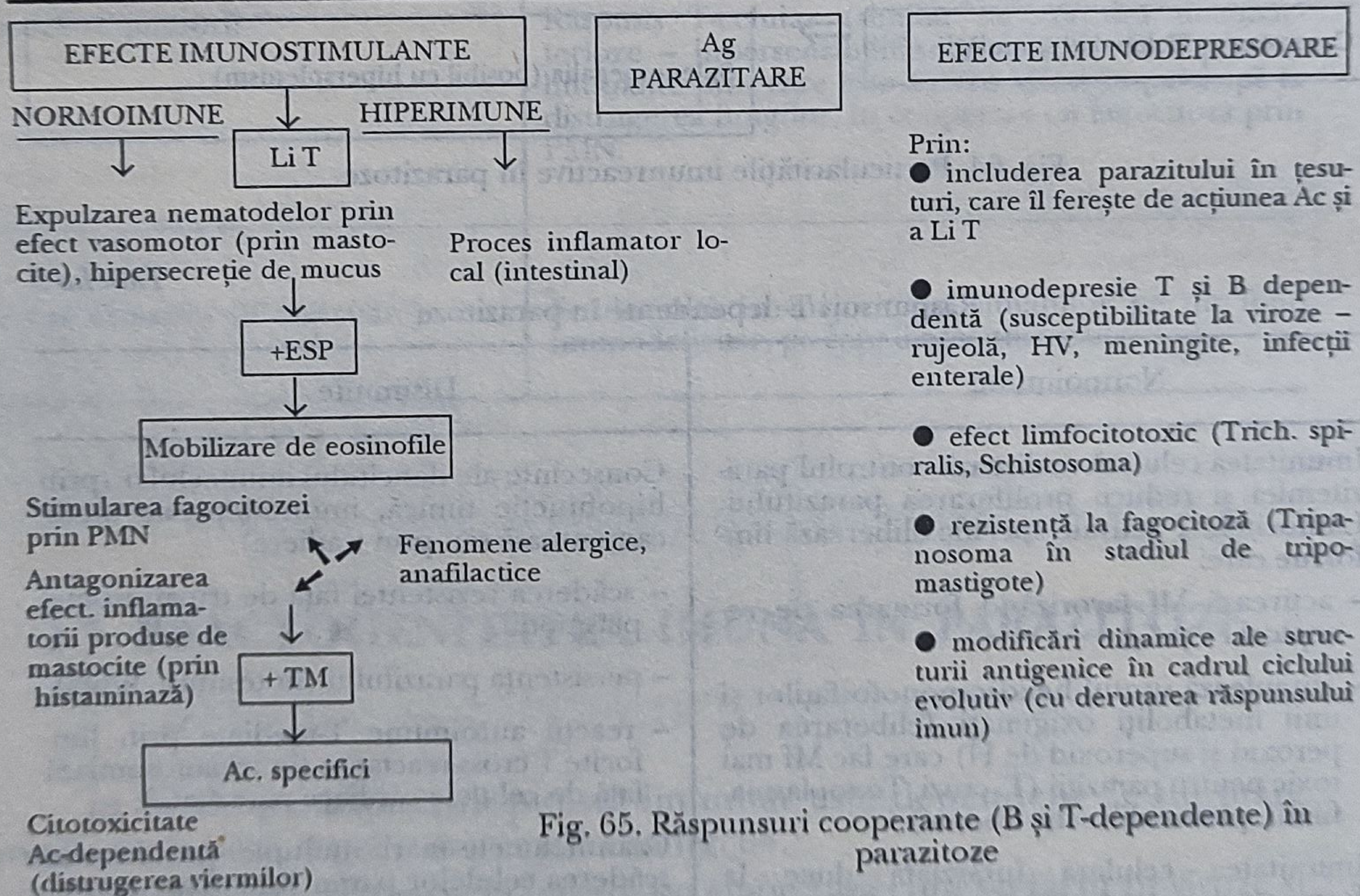


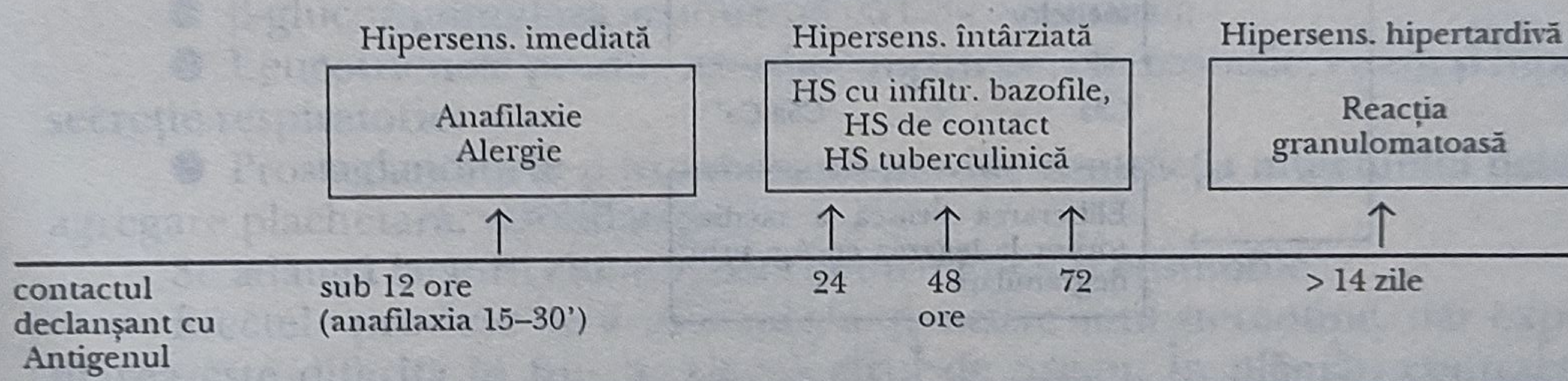
Fig. 65. Răspunsuri cooperante (B şi T-dependente) în parazitoze

Toate aceste modalităţi rectogene sunt esenţiale în înţelgerea mecanismelor imunopatologice, răspunzătoare de o bună parte din patologia infecţioasă actuală. (3 .8. 10. 11. 12. 14. 15. 21.)

2. MECANISME IMUNOHIPERENERGICE ÎN PATOLOGIA INFECȚIOASĂ

2.1. HIPERSENSIBILITATEA IMEDIATĂ, ÎNTÂRZIATĂ ȘI GRANULOMATOASĂ

După cea mai elementară definiție, HS este răspunsul supranivelat al organismului față de un antigen cu care a stabilit un contract anterior. Pentru sistematizarea principalelor forme de hipersensibilitate, criteriul cel mai des folosit este reprezentat de timpul scurs de la contactul declanșant cu antigenul provocator și până la apariția manifestărilor majore. Deosebim astfel (fig. 66.):



Terminologie

- Anafilaxia: contractul cu Ag are loc în circulație.
- Alergia: contactul cu Ag are loc pe tegumente sau mucoase.
- Atopia: predispoziția familial-genetică la hipersensibilitate imediată, manifestată prin urticarie recidivantă, crize astmatice, exeme recidivante, rinită alergică, de fân sau polen etc.
- Sensibilitatea cu infiltrate bazofile (reacție Jones-Mote) se produce subepidermic la contactul cu unele antigene solubile.
- Sensibilitatea de contact: alergenul e deseori o haptenă (cu MM mică).
- Hipersensibilitate tuberculinică (fenomenul Koch) se produce la contactul cu lipoproteina antigenică a BK.
- Reacția granulomatoasă se dezvoltă prin persistență îndelungată a agentului patogen în Mf sau țesuturi.

Fig. 66. Principalele alternative de ale reacțiilor hipersensibilizante.

În patologia infecțioasă se întâlnesc toate cele trei variante de hipersensibilitate în: șocul anafilactic prin seruri specifice heterologe, astmul postinfecțios, tuberculoză și reacția la tuberculină. Reacția granulomatoasă se produce în

numeroase etiologii, cu precădere în parazitoze şi în alte afecţiuni în care rolul principal e jucat de imunitatea celulară (1. 4. 20. 23).

Mecanismul hipersensibilităţii imediate este sintetizat în fig. 67.

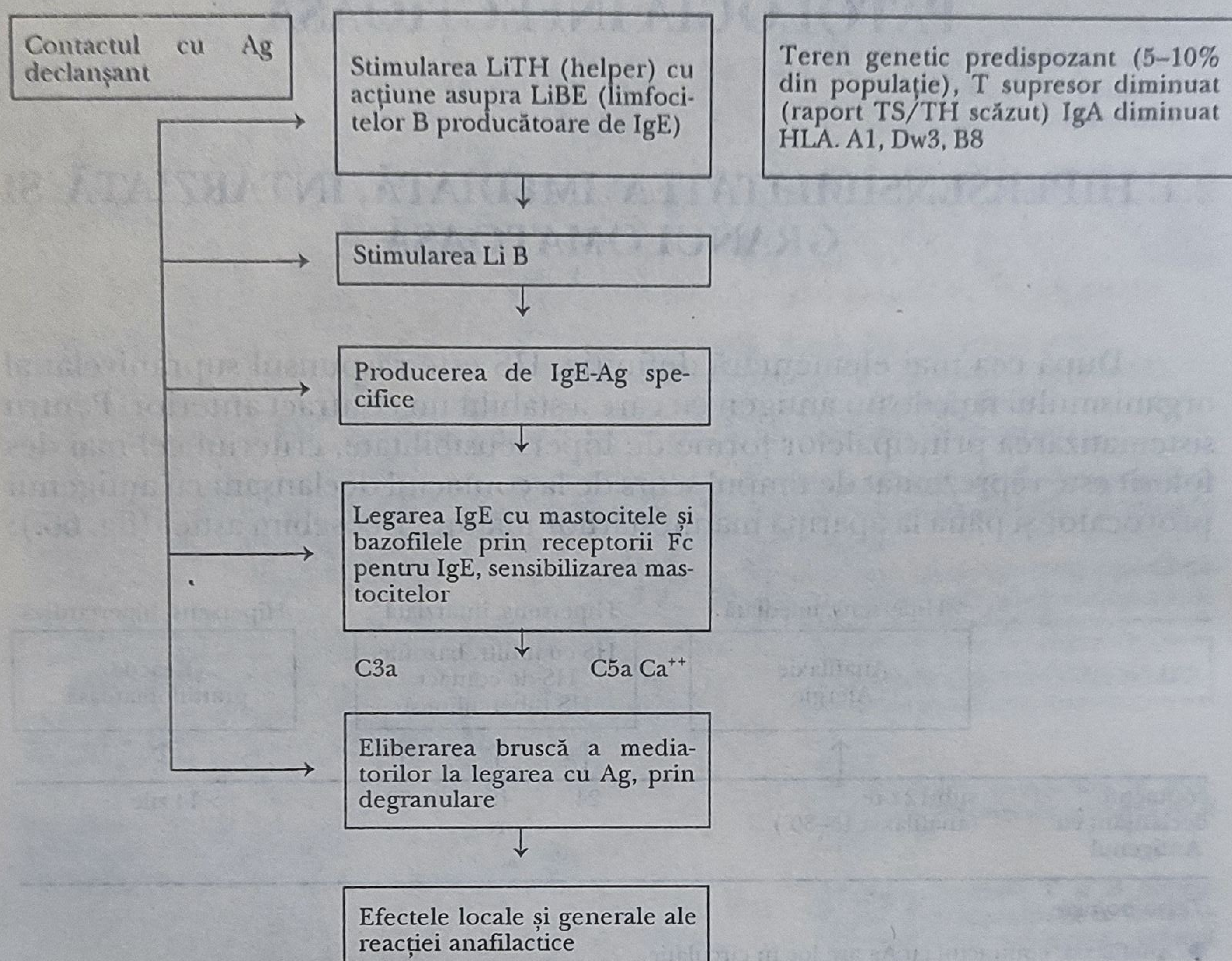


Fig. 67. Etapele hipersensibilităţii imediate.

În bolile infecţioase există numeroase alternative în care infecţia (sau infestaţia) declanşează această cascadă patogenică, ce are ca moment esenţial producţia crescută de IgE-antigen specifice, ca de pildă sub influenţa componentei alergizante a toxinei eritrogene a streptococului β-hemolitic, antigenelor de B. pertussis, unor antigene de protozoare sau metazoare; în infecţii virale (cu virus herpetic, gripal şi paragripal, adenovirusuri) acest mecanism este implicat în rinita alergică, astmul postival şi edemul laringian însoţit de bronhospasm din crupurile virale (4. 16).

Momentul declanşat al reacţiei se poate sintetiza astfel: IgE care e citofilă se fixează electiv pe celulele ţintă, cu precădere pe mastocitele tisulare şi bazofile sanguine. O moleculă de alergen se fixează pe două molecule de IgE la nivelul situs-urilor de „pontaj".

În organism acționează două populații de mastocite: în mucoase (MMc), care răspund mai ales la alergenele verminozelor intestinale și în alergiile intestinale de cauză alimentară sau infecțioasă și cele ale țesutului conjunctiv (CM), eliberatoare mai ales de histamină, care se asociază cu alergiile tractului respirator și sunt contracarate de cromoglicat și teofilină.

În procesele alergice mai participă însă și alte celule, astfel: monocitele (în exema atopică), macrofagul alveolar, activat de temperaturile scăzute (în alergiile respiratorii de cauză virală), eosinofilele și trombocitele (în parazitoze și cu precădere în schistosomiază).

Mediatorii reacțiilor de hipersensibilitate sunt eliberați în proporții diferite în funcție de teren, ceea ce explică unele diferențe de răspuns sau privind organele afectate. Principalii mediatori sunt:

- FSH: factorul sensibilizant la histamină, produce bronhospasm;
- Histamina, produce vasodilatație, bronhoconstricție și stimulează chemotoxia;
- Heparina, are efect anticoagulant;
- Triptaza acționează ca enzimă proteolitică;
- β-glucozaminidaza acționează ca C3-convertază;
- Leucotrienele produc bronhoconstricție, chemotaxie, edem și hipersecreție respiratorie;
- Prostaglandinele și tromboxanii produc contracția mușchiului neted, agregare plachetară, vasodilatație.

Se adaugă factorii chemotaxici pentru PMN și eosinofile.

Efectele produse de aceste substanțe active sunt stereotipe, dar exprimarea este diferită în funcție de spectrul de organ. În plămân contracția mușchiului neted în căile aeriene și hipersecreția mucoasei determină criza astmatică, iar în tubul digestiv diareea.

Reacțiile sunt brutale și neconfortabile, dar favorizează – cel puțin în parte, eliminarea (hipersecreția), agenților toxici și infecțioși. Șocul anafilactic fiind – de fapt – unicul șoc colinergic, este favorabil influențat de epinefrină, care scade sensibilitatea la mediatori.

Reacția tuberculinică este o formă de hiperimunitate celulară (ce se derulează cu rol redus al anticorpilor), ca răspuns la antigene cu stimul persistent. Ea apare atunci când limfocitele specifice sensibilizate, care au receptori pentru antigene, reacționează cu acestea în țesuturi. Denumirea reacției este justificată, pe de o parte datorită faptului că subiecții sensibilizanți (imunizați) sunt mai susceptibili, pe de altă parte pentru că, în comparație cu alte reacții sensibilizante, apare (pe piele) la 24–48 ore, spre deosebire de fenomenul Arthus (la 6 ore) și reacția de anafilaxie cutanată (la 15 minute) (20, 25).

Principalele antigene răspunzătoare de hipersensibilizarea întârziată provin din: Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium leprae (reacția

Fernandez), Brucella (reacția Wright), infecția listeriană, infecțiile fungice (blastomicoza), leismanii, nematode ș.a.

Natura receptorilor limfocitelor T pentru antigenele sensibilizante nu e integral stabilită, dar se pare că au structură pseudoimunoglobulinică (mimează un fragment de Ig).

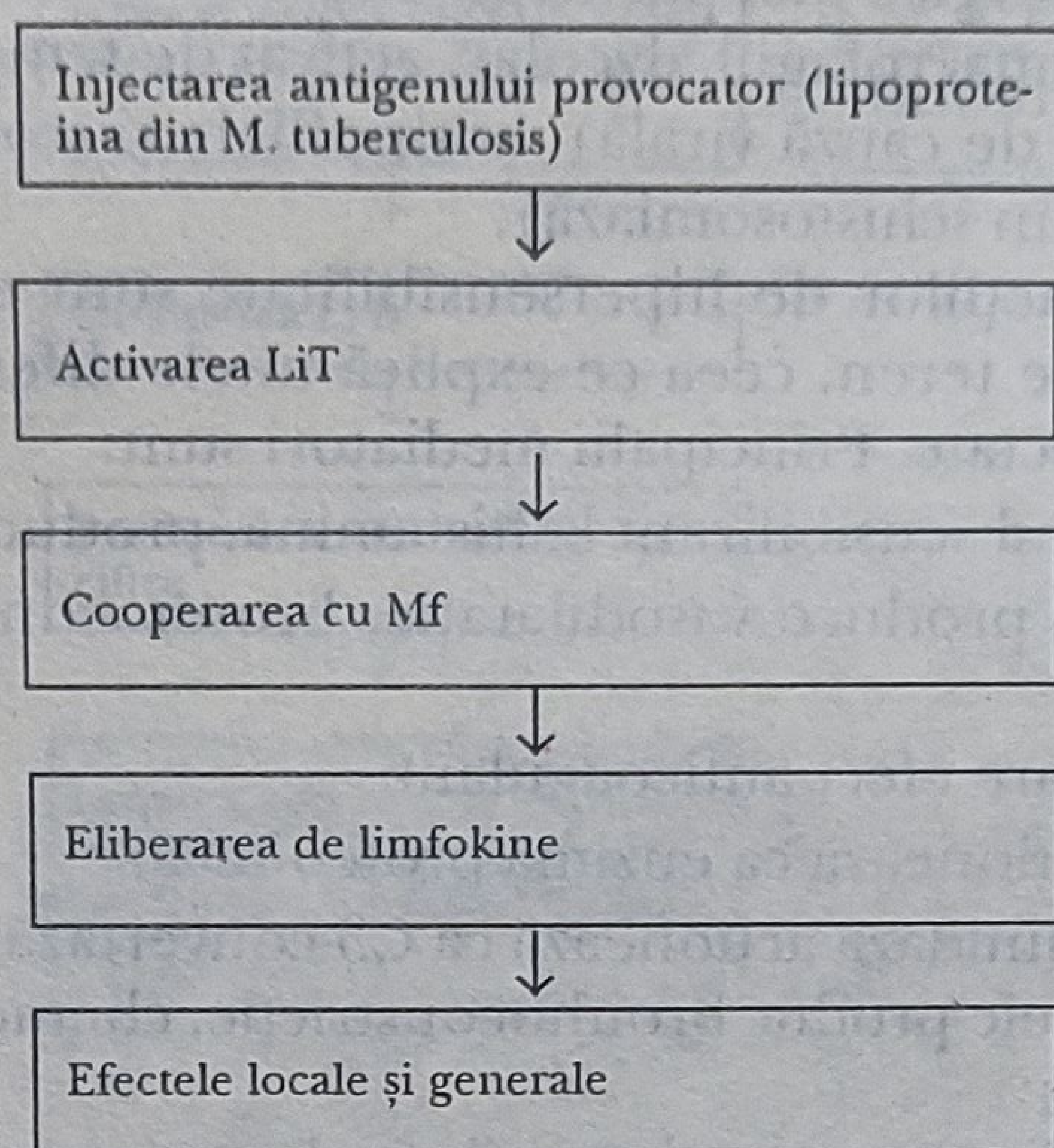


Fig. 68. Etapele reacției tuberculinice

Limfocitele efectoare sunt LiTD și TK. TD (delayed) sunt cele care atrag macrofagele și duc la eliberarea de mediatori limfokinici. TK acționează asupra Ag aflate pe suprafața celulelor țintă producând distrucția acestora, prin citotoxicitate directă.

Pe scurt, etapa efectoare a hipersensibilizării întârziate decurge astfel:

- limfocitele T recunosc antigenul și proliferează blastic;
- se formează populația de limfocite T-sensibilizate specific;
- are loc interrelația cu Mf, eliberarea de limfokine la întâlnirea cu celulele prezentatoare de Ag (cu receptori).

În etapa de formare a setului de limfocite T-sensibilizate, se pozitivează testul de transformare blastică (TTB), evidențiindu-se, ca urmare a diviziunii, sinteza crescută de ADN, măsurabilă prin captarea de timidină tritiată.

Principalele limfokine eliberate sunt:

- Interleukina II: favorizează proliferarea limfocitelor T;
- FIL (factorul de inhibiție limfocitară): inhibă funcția limfocitului T-supresor;
- limfotoxina: stimulează acțiunea limfocitelor TK;
- FRT (factorul reactiv tegumentar): facilitează selectarea celulelor inflamatorii din circulație;

- FM (factorul mitogen): stimulează limfocitele T-helper;
- Interferonul: inhibă multiplicarea virală;
- FIM (factorul de inhibiție a migrării): produce localizarea Mf la locul inflamației;
- FAM (factorul de activare a Mf): favorizează acțiunea bactericidă a Mf. (De fapt există un subgrup al limfokinelor activatoare care stimulează activarea fagocitară și bactericidă a Mf și în ansamblu hiperreacția întârziată).

Efectele semiologice ale HSI se pot sistematiza în locale și generale. Leziunea locală caracteristică este un infiltrat difuz și perivascular, dezvoltat la 24 ore, conținând preponderent mononucleare și puține PMN. La 48 ore se extinde infiltrația perivasculară mai ales prin acumulări limfocitare, se dizlocă colagenul. Fagocitoza și digestia prin Mf e direct proporțională cu leziunea tisulară. La 72–96 ore aceasta ajunge la intensitatea maximă, după care o dată cu diminuarea densității macrofagelor, se dezvoltă reacția granulomotoasă. Modificările generale se exprimă prin febră moderată, adinamie, stare de disconfort.

Hipersensibilitatea granulomotoasă (hipertardivă) este o variantă a sensibilității întârziate, care însă, prin intensitate și prin prezența îndelungată a agentului (în stare solubilizată sau în curs de catabolizare), devine nu numai un test diagnostic dar și un eveniment de patologie.

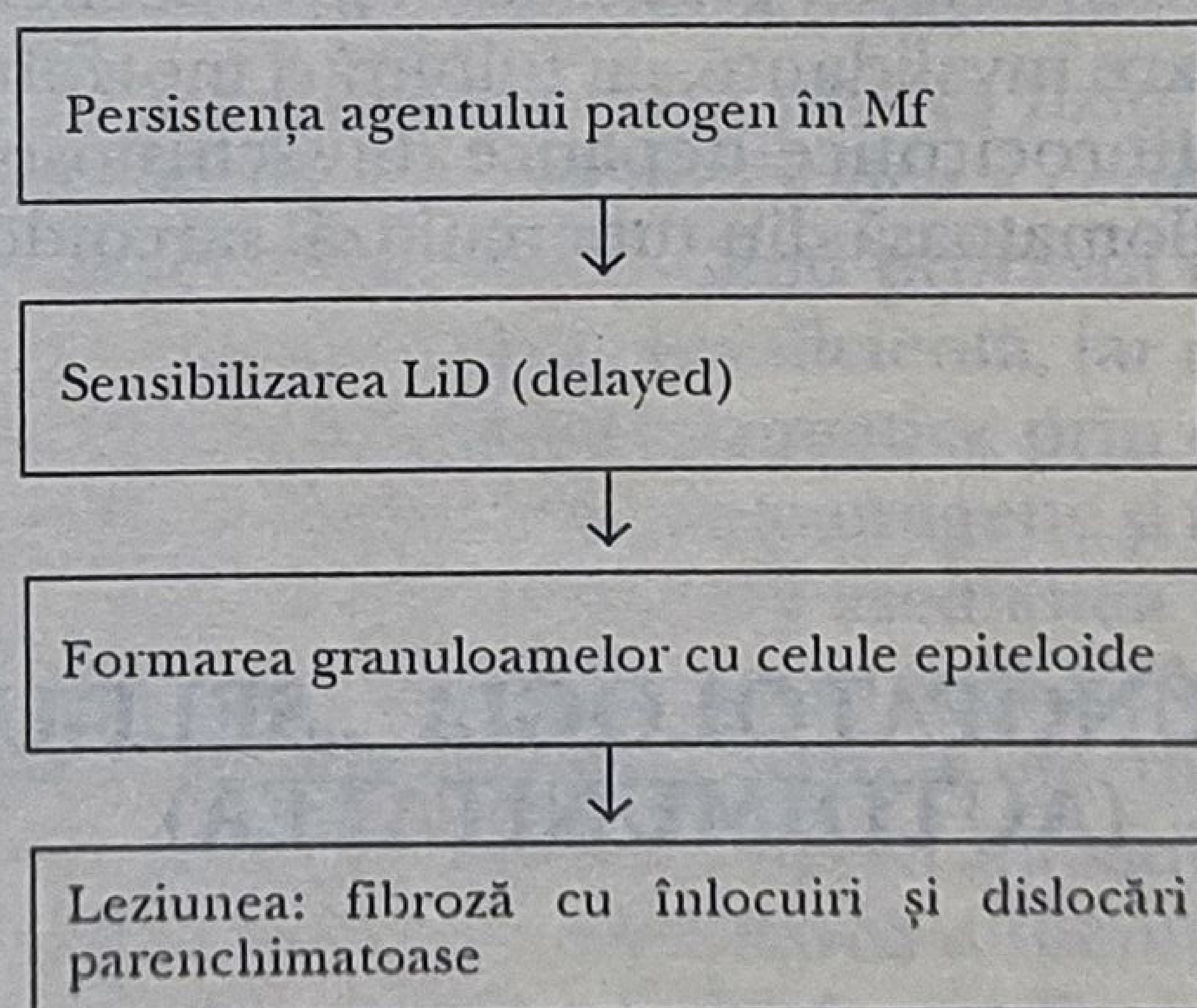


Fig. 69. Etapele hipersensibilității granulomotoase (HG).

Persistența îndelungată a antigenului, condiție esențială a HG rezultă din imposibilitatea Mf de a distruge agenți infecțioși ca: Mycobacterium tuberculosis și leprae, S. typhi (formându-se granulomal tific sau tifomul în formațiile limfatice ale ileonului terminal), Brucella (granulomul brucelian), Schistosoma (și alte metazoare). Granuloame cu structură similară se dezvoltă în sarcoidoză, berilioză, unele micoze, enterite regionale cronice etc.

LiTD (delayed, de sensibilitate întârziată) sunt acelea care stimulează acumularea celulară precum şi modificările semiologice, ce stau la baza reacţiilor de diagnostic (reacţia Kwein în sarcoidoză, reacţia Mitzuda în lepră).

Structura granulomului este foarte asemănătoare, indiferent de etiologie. El se defineşte ca un spaţiu ocupat de celule de inflamaţie, care în stadiul iniţial seamănă cu o reacţie comună de sensibilitate întârziată. Treptat se constituie o acumulare stabilă de macrofage şi limfocite. O bună parte din macrofage suferă o modificare devenind celule epiteloide, ordonate în travee sau în plasă, înconjurate de fibroblaste şi limfocite. În ochiurile reţelei (trabeculare sau mai puţin organizate spaţial), apar celulele gigante multinucleate. Celulele epiteloide sunt mari, uşor alungite sau aplatisate, având un reticol endoplasmic bine reprezentat dar activitate fagolizozomică redusă. Celulele gigante multinucleate (Langhans şi simulare) prezintă lizozomi şi mitocondrii în diverse etape de degenerescenţă, zona centrală liberă, nucleii şi formaţiile veziculare având dispoziţie periferică. Aceste celule sunt, foarte probabil, un stadiu final de diferenţiere a liniei monocitomacrofagice.

Patologicul începe în perioada de extindere a degenerescenţei granulomatoase, cu necroză centrală şi depunere de colagen şi proliferare fibroblastică periferic. Treptat ţesutul normal e înlocuit, ajungând să fie alterată morfologia şi funcţia organului gazdă. În felul acesta se produc: leziunile aparatului ganglio-limfatic ale ileonului terminal în febra tifoidă, care pot duce la perforaţie sau hemoragie, granuloamele bruceliene care se pot solda cu leziuni osteoarticulare invalidante, cu tulburări morfofuncţionale viscerale ireversibile, leziunile fibrocirotice hepatice din schistosomiază, leziunile de degenerescenţă granulomatoasă din tuberculoză, sarcoidoză, lepră etc.

2.2. IMUNOPATOLOGIA „SELF-ULUI" (AUTOIMUNITATEA)

„Self" şi „non-self" (not-self). Noţiunea de „self" în imunologie, nu are integral semnificaţia conferită etimologic, cea de „sine însuşi", după cum nici cea opusă, de „non-self" nu înseamnează obligator negarea propriului. Selful este, fie o structură care aparţine cu adevărat propriului, fie una posibil străină care o mimează pe prima până la coincidenţă. Aceasta este recunoscută ca atare de efectorii imuni, care manifestă faţă de ea toleranţă integrală. „Non-selful" este un self modificat, nici prea blând dar nici prea radical pentru a nu mai putea deveni activator al aparatului imun (autoantigen).

O problemă mult contraversată a fost acea referitoare la obligativitatea intervenției unei circumstanțe patologice (agresive) în determinismul trecerii de la „self" la „nonself", deoarece în absența unui concept tradițional, devenea necesar apelul la teoriile mult invocate ale „clonelor interzise", ale „toleranței rupte", ale „mutației somatice", mai mult sau mai puțin corelabile cu influențele genetice și imunogenetice.

Parcurgând drumul de la fiziologic la patologic, treptele trecerii de la „self" la „nonself" pot fi sintetizate astfel:

a) Structuri având atributele nonselfului există și în condiții normale (autoantigene): mielina, componente biochimice din structura spermatozoizilor și a unor formații oculare, dar poziția lor izolată față de sistemul imunitar prin bariere biologice le face inofensive. Dacă se creează condiții de contact direct cu circulația, vor fi recunoscute ca atare și se materializează premise de patologie autoimună.

b) Cu toată marea lor diversitate, proteinele circulante, și-au câștigat toleranța genetic, tocmai prin recunoașterea lor în cadrul speciei. Doar în rarele cazuri de absență congenitală a unor seroproteine, în alternativa în care se face imunizarea cu acestea, se dezvoltă anticorpi specifici anti-seroproteine (așa de pildă deficitul congenital în fracțiunea C4 poate determina AA-anti C4).

c) Cea mai frecventă circumstanță de formare endogenă de autoantigene este cea corelată cu metabolismul. Allison, Rose ș.a. (în 1986) au demonstrat că autoanticorpii se pot pune în evidență la persoane normale (și cu precădere la vârstnici), ca expresie a unui proces fiziologic. Cea mai mare parte a proteinelor rezultate din uzura catabolică a celulelor sunt degradate prin intermediul enzimelor de autoliză. Când procesul catabolic este foarte intens, activitatea acestor enzime devine insuficientă, iar compușii proteici de degradre persistă ca urmare a inhibiției enzimatice prin exces de substrat. În această situație, proteinele restante devin autoantigene și induc autoanticorpi. Față de acizii nucleici nativi nu se formează asemenea anticorpi, deoarece nucleazele endogene pot opera degradarea lor; dacă însă aceștia se injectează sub formă de ribozomi (care se sustrag parțial efectului nucleazelor) se formează totuși anticorpi anti-acizi nucleici. Acești autoanticorpi sunt nenocivi (dimpotrivă au acțiune favorabilă prin eliminarea substanțelor de catabolism), deoarece nu agresionează suprafețele celulare și nu fixează complementul.

d) Imunopatologia propriu-zisă a „self-ului" începe pe treapta în care acesta este perturbat din cauze exogene. Modificările de structură induse trebuiesc să fie suficient de pronunțate pentru a-l transforma în „nonself", dar destul de blânde pentru a păstra analogia de structură necesară recunoașterii, deci pentru a se produce reacția încrucișată.

Factorii modificatori sunt:

- fizici (ultrasunete, iradiații);
- chimici (acizi, baze, enzime, substanțe toxice);

● biologici neinfecţioşi (leziunile tisulare prin senescenţă, leziunile necrotice şi ischemice din infarctul de miocard);

● biologici infecţioşi (virusuri, bacterii, toxine microbiene).

Ultimul mod de agresiune a „self-ului" circumscrie domeniul autoimunităţii infecţioase.

e) Un alt mecanism prin care se pot forma efectori imuni faţă de propriile structuri este acela în care antigenul este exogen, dar prezintă atât de mari asemănări de structură cu unele componente endogene, încât permite reacţia imună încrucişată (cross-reacţia). Această alternativă nu este deloc rară, deoarece, din jocul legilor unităţii materiei biologice, moleculele coincidente sunt des întâlnite (terenul). Mai mult chiar: macroorganismul poate conţine molecule ce se pretează de a deveni antigenice doar într-un singur organ sau ţesut (autoimunitate organ-specifică, leziunile dezvoltându-se doar la organul ţintă), sau dimpotrivă molecule ce pot deveni multiorganic-antigenice (autoimunitate non-organspecifică).

Trebuie subliniat însă că, circumstanţele menţionate nu se materializează în mod obligatoriu la toate persoanele care întrunesc condiţiile menţionate, ceea ce implică şi o componentă genetică (sau imunogenetică):

Context genetic favorabil autoimunităţii:
- anomalii ale cromosomului A,
- asocieri cu: HLA. DR3, B8, DR4, DR5

Context genetic nefavorabil autoimunităţii:
- asocieri cu: HLA. A, HLA. B (fără B8).

MECANISMUL AUTOIMUNIZĂRII

Hiperreacţia imună faţă de structurile proprii poate fi B-dependentă (prin autoanticorpi, situaţia cea mai frecventă), T-dependentă (prin LiT specific activate la autoantigene) sau mixtă (B şi T-dependentă). Autoanticorpii se pot evidenţia prin imunofluorescenţă.

Ambii efectori (LiB-autoreactive şi LiT-autoefectoare) există obişnuit în organism, dar funcţionează sub controlul celular (feed-back) al imunităţii. Cel mai important control limitativ e îndepilinit de acţiunea LiT-supresor, prin care LiTH-autoanticorpoproducătoare sunt oprite în transformarea blastică.

Cele două etape ale autoimunizării sunt sintetizate în fig. 70 şi 71:

Efectele patologice se produc numai faţă de structurile celulare accesibile efectorilor autoimuni (de suprafaţă) şi nu faţă de cele interioare.

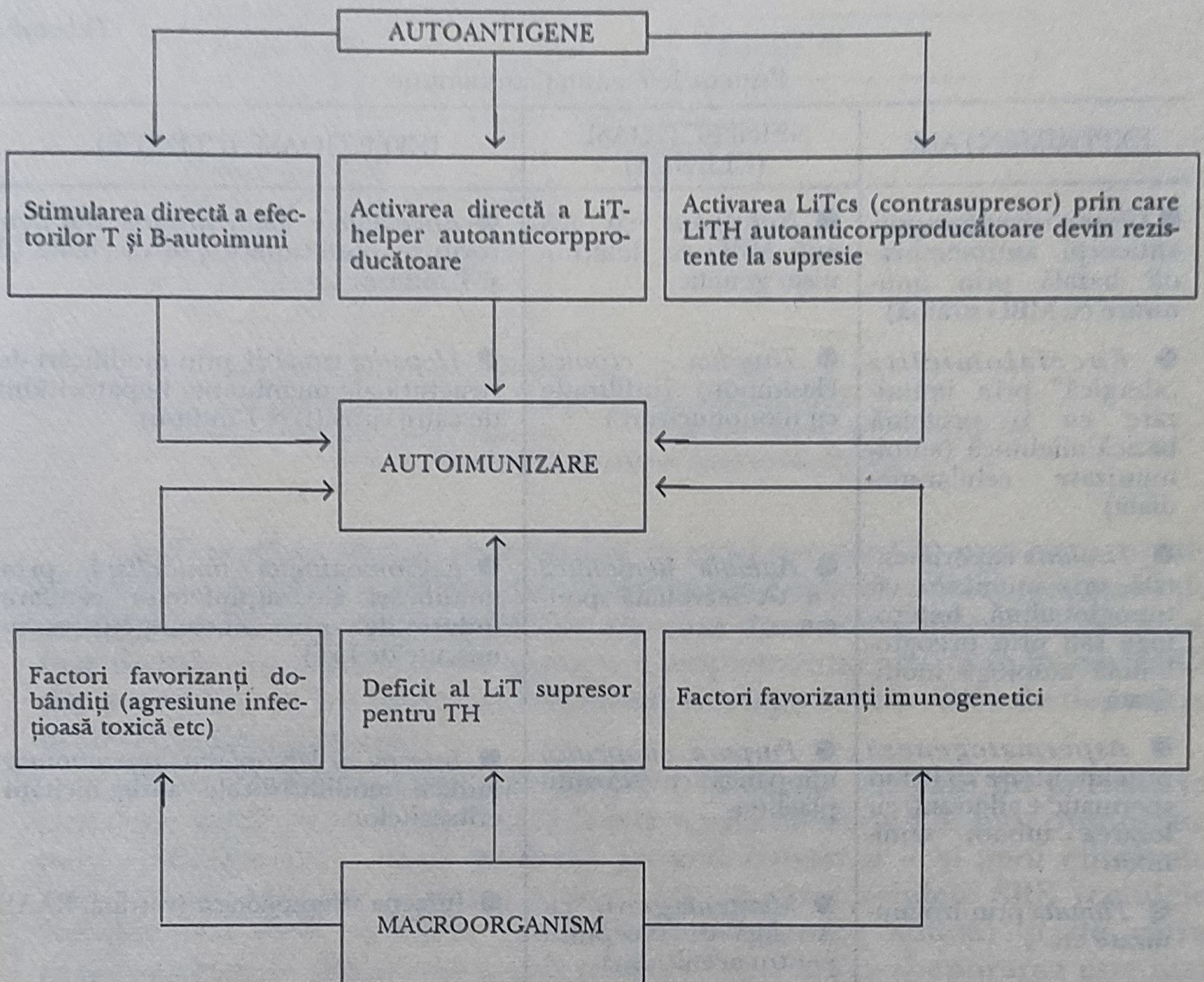


Fig. 70. Stimularea LiT și B autoreactive.

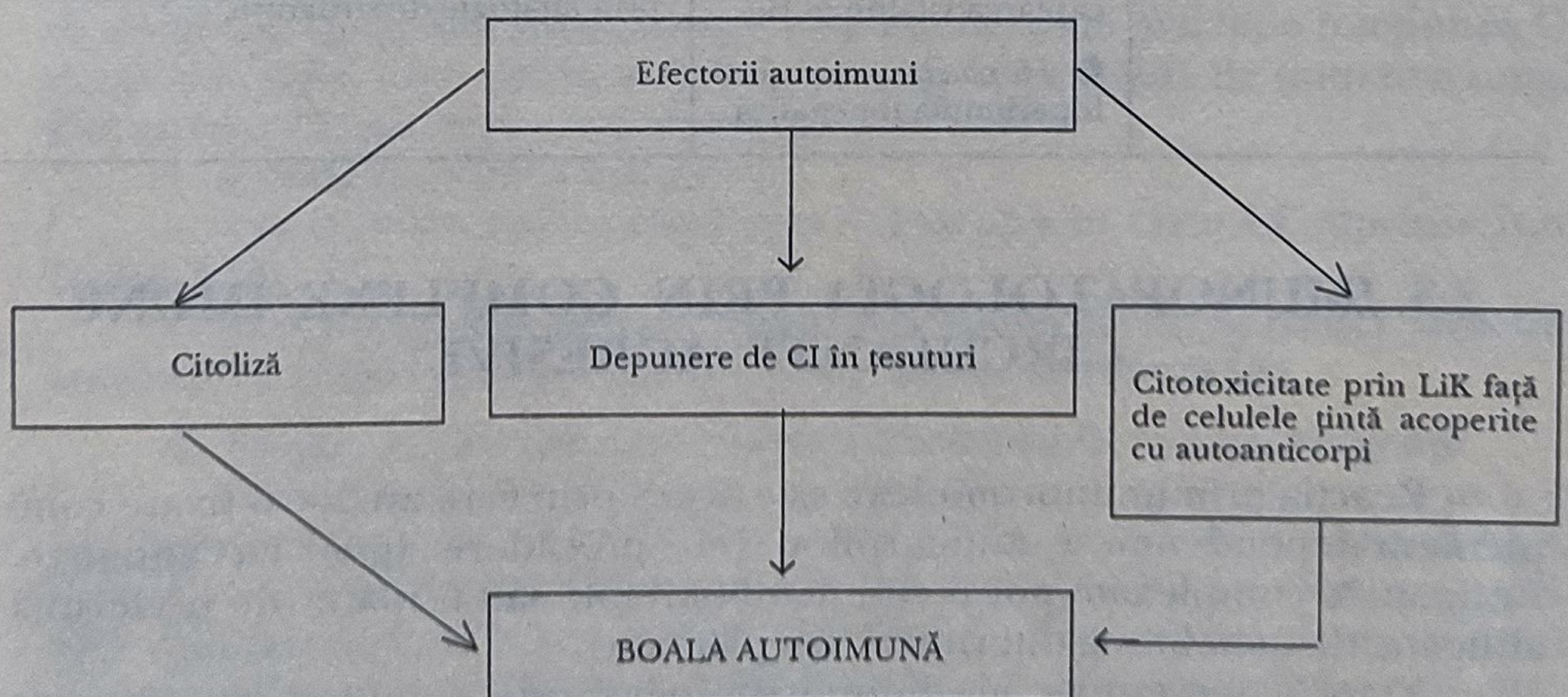


Fig. 71. Mecanismul agresiunii autoimune.

Tabelul 7

Principalele entități autoimune

EXPERIMENTALE	NEINFECȚIOASE (CLINICE)	INFECȚIOASE (CLINICE)
● *Glomerulonefrita* prin anticorpi antimembrană bazală prin imunizare cu MBG străină)	● *Nefropatia* cu AA anti MBG cu determinism genetic	● *Encefalitele demielinizante* din neuroviroze, posteruptive, postvaccinale (B și T induse)
● *Encefalomielita* „alergică" prin imunizare cu o proteină bazică mielinică (autoimunizare celular-mediată)	● *Tiroidita cronică* Hashimoto (infiltrație cu mononucleare)	● *Hepatita virală B*, prin modificări de structură ale membranei hepatocitului de către virus (B și T induse)
● *Tiroidita* experimentală, prin imunizare cu tireoglobulină heterologă sau prin tireoglobulină autologă modificată	● *Anemia hemolitică* cu AA dezvoltată spontan	● *Coriomeningita limfocitară*, prin modificări ale suprafețelor celulare induse de virus (neoantigene recunoscute de LiT)
● *Aspermatogeneza* prin imunizare cu lichid spermatic + adjuvant, cu lezarea tubilor seminiferi	● *Purpura citopenică* idiopatică cu AA-antiplachete	● *Infecția cu Mycoplasma pneumoniae* induce modificări ale antigenicității eritrocitelor
● *Thimita* prin izoimunizare etc.	● *Miastenia-gravis* cu AA față de receptorii pentru acetilcolină	● Infecția streptococică (cardita, RAA)
	● *Anemia parnicioasă* cu AA care interferează captarea vitaminei B_{12}	● *Infecția cu E. Coli* 0.14 induce autoimunizare față de celulele colonului prin analogie de structură.
	● *Hepatita cronică* hiperimună B-negativă	

2.3. IMUNOPATOLOGIA PRIN COMPLEXE IMUNE CIRCULANTE AGRESIVE

Reacția prin imunocomplexe este aceea prin care are loc o fixare complement-dependentă a anticorpilor (cu precădere IgA) cu antigene. Antigenele complexate pot fi circulante-solubile sau tisulare (de preferință antigene de membrană din rinichi sau plămâni).

Etapele secvențiale ale imunopatologiei prin complexe imune sunt sintetizate în fig. 72 și analizate în aceeași succesiune.

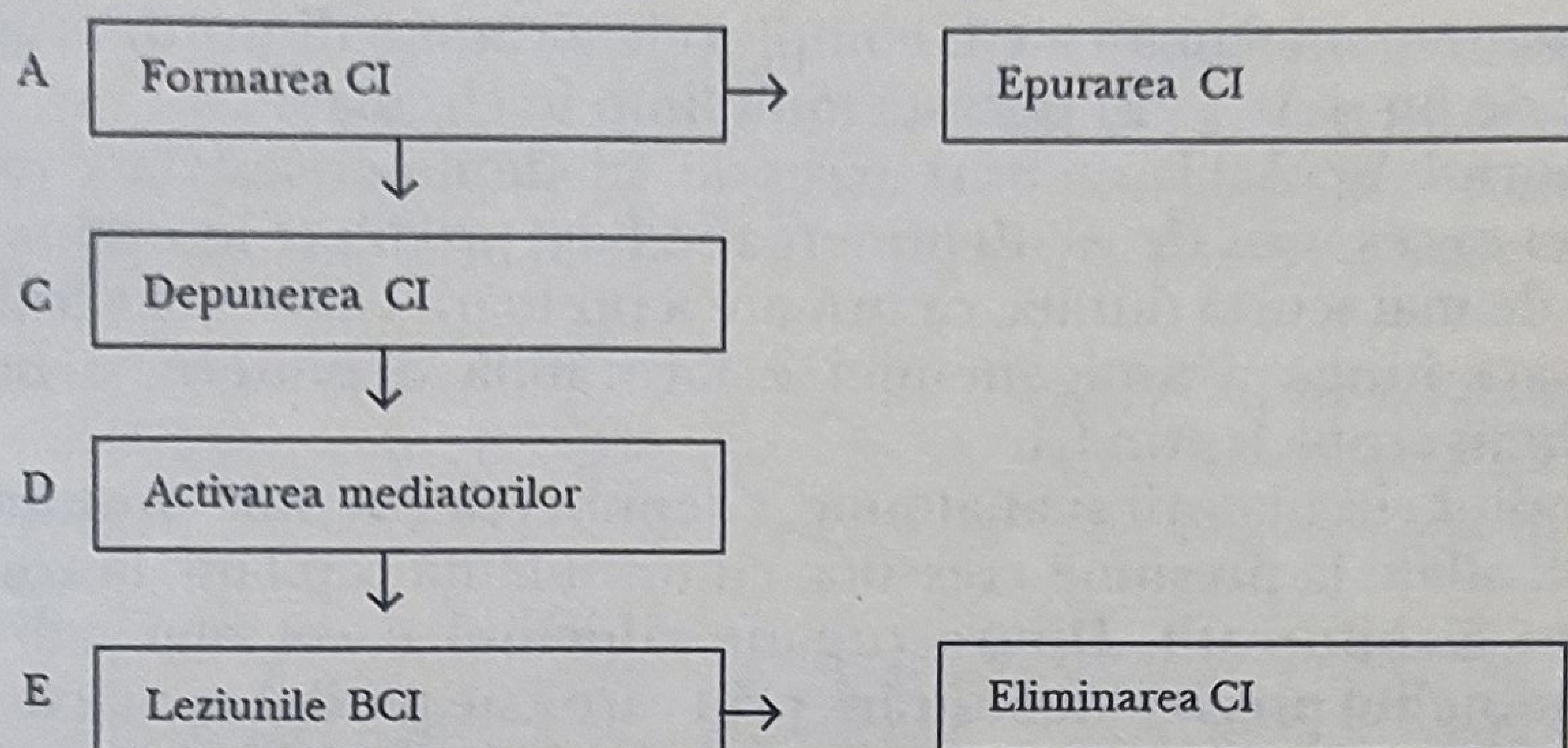


Fig. 72. Formarea și eliminarea imunocomplexelor.

A. Complexe imune se formează în mod constant în organism, ori de câte ori un antigen se întâlnește cu anticorpul specific. Deci, procesul de complexare este o reacție normoimună, care duce la anihilarea antigenului, care de cele mai multe ori este exogen. Complementul are rol în formarea CI dar acesta are un rol mult mai important în etapa a treia (cea de depunere preferențială în țesuturi).

B. În marea majoritate a situațiilor CI Ag-Ac formate nu persistă în circulație decât pentru o perioadă foarte scurtă de timp. Ele sunt opsonizate prin complement – după modelul general cunoscut – și apoi eliminate (clearance), eficient după fagocitarea lor de către celulele SRE (celulele Kupffer din ficat, celulele reticuloendoteliale din splină) și de către mononuclearele circulante și pulmonare. Fagocitarea și epurarea este mai rapidă pentru CI cu dimensiuni mari, deoarece în structura acestora intră Ig-Fc pentru SRE, ceea ce permite celulelor SRE de a avea o mai mare aviditate de a lega CI. Pe de altă parte, complexele mari fixează mai bine fracțiunea C_{1q} decât cele mici, care rămân astfel în circulație o perioadă de timp mai lungă. Eliminarea CI mai depinde și de alți factori:

– debitul circulator hepatic;

– disponibilitatea în complement (mai ales în cazul CI cuprinse între 14 S și 22 S);

– de prezența grupării carbohidrat în molecula de Ig (astfel, structura anormală a acestei grupări, în LED, favorizează persistența CI).

C. Depunerea CI este favorizată de următorii factori convergenți:

– Corelația dintre dimensiune, solubilitate și cantitate: se depun cu precădere CI solubile, în condiții de exces de Ag, atunci când sistemul Ag-Ac este cuprins între 19 S și 22 S. În alternativa excesului de Ac, eliminarea prin SRE este favorizantă. Întrucât concentrația Ag e dependentă de mecanismul de clearance, este evidentă relația acesteia cu starea morfofuncțională a mononuclearelor și a celulelor SRE.

– Structura moleculară a CI: complexele alcătuite dintr-un număr mic de molecule de Ag și Ac (~ 2) persistă mult timp în circulație.

– Raportul Ag/Ac: la un ușor exces de Ag, depunerea se face predilect în vase, la un exces ușor de Ac depunerea se face predilect în organe, unde circularea e de mai scurtă durată, ca urmare a preluării CI de către SRE.

– Durata lungă a antigenemiei e favorabilă depunerii și mai ales declanșării bolii cronice prin CI.

– Condiții circulatorii și anatomice: depunerea este mai pronunțată în ariile cu vase aflate la presiune crescută, cu turbulență capilară, la zonele de branșare sau la bifurcații. Dintre organe rinichiul e cel mai vulnerabil, deoarece endoteliul prezintă fenestrări, prin care este posibil contactul direct cu sângele aflat în glomeruli la un flux intens și presiune hidrostatică ridicată.

– Substanțele favorizante: concentrațiile locale în anafilatoxină, serotonină și histamină eliberate de trombocite și bazofile (mecanismul histamino-inductor e C-dependent); mecanismul C-independent e reprezentat de activarea „factorului de activare trombocitar" („platelet activating factor"), un fosfolipid cu MM de 1100 daltoni, important mediator al depunerii.

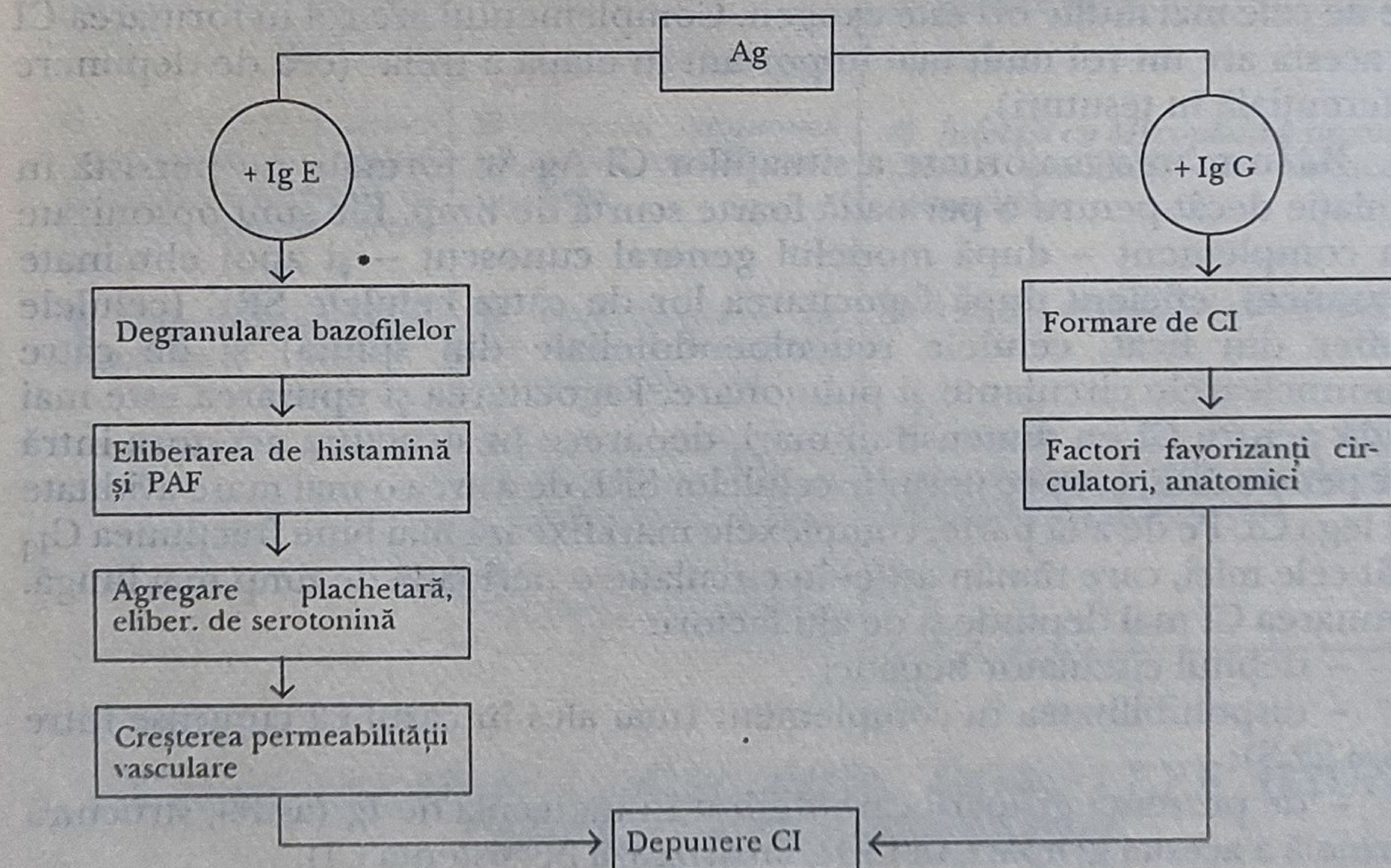


Fig. 73. Mecanismul C-independent de depunere a CI în boala acută.

Sediul depunerii CI poate fi:

a) **Pe membranele celulare sau pe membrana bazală glomerulară** (MBG), în cadrul patologiei autoimune, când, ca urmare a persistenței autoantigenului, se formează prelungit autoanticorpi care alimentează formarea de CI (ca de pildă în reumatismul articular, în hepatita B cronică, în sin-

dromul Goodpasture. În PESS, alături de alte mecanisme imunopatologice, intervine și unul autoimun: celulele infectate cu virus defectiv devin sensibile față de CI + C_3 mai mult decât față de anticorpii citotoxici. Alte argumente sunt:

– Persistența îndelungată a Ac-antirujeolici în ser, care e prielnică formării de CI.

– Evidențierea depozitelor formate din Virus-Ig-C_3 pe suprafața celulelor.

– Concomitența (posibilă) a leziunilor renale cu aceleași CI.

În encefalita herpetică, argumentele în favoarea patologiei prin CI sunt următoarele:

– Evidențierea complelelor Virus + Ig M în țesutul cerebral.

– Prezența îndelungată a genomului Virus-ADN în creier și a anticorpilor specifici în LCR.

– Evidențierea aceluiași antigen viral atât în CI cât și în țesutul lobului temporal.

b) **În tunica intimă și medie a peretelui arteriolar** (și cu precădere în rinichi), sub formă de CI formate din Ag + IgM + C. Exemple: în glomerulonefrita acută din infecțiile cu streptococ β-hemolitic, în endocardita stafilococică sau cu streptococ viridans, în nefropatia din malaria cu Plasm. vivax etc.

c) **Pe plexurile coroide ale ventriculilor cerebrali** care reprezintă un sediu prielnic datorită porozității. În infecția experimentală la șoarece cu virusul coriomeningitei limfocitare (VCML) se evidențiază CI (Virus + Ac + C_3) în ser, în plexurile coroide, în ventriculii cerebrali și în mezangiul glomerulilor renali.

d) **Pe suprafețele mucoasei respiratorii,** după inhalarea de material antigenic. Exemplu: boala pulmonară a fermierilor, cu anticorpi circulanți la fungi și Actinomyces prin expuneri repetate, caracterizată prin inflamație cronică urmată de fibroză.

În principiu se admite că tendința generală este localizarea CI în țesuturile unde membranele bazale nu sunt complet acoperite de celule epiteliale (rămân porozități), cum sunt: glomerulii, alveolele, sinoviala, plexurile coroide. Dar activarea C_3a și C_5a de către CI poate duce la contracția celulelor epiteliale (endoteliale) permițând astfel CI de a se depozita în vasele care obișnuit sunt acoperite de endoteliu.

Etapa cuprinsă între depunerea CI și apariția leziunilor tisulare e sintetizată în fig. 74:

Mobilizarea PMN la sediul depunerii e direcționată împotriva CI, cu tendință de eliminare, de blocare a agentului infecțios cu referire specială asupra infecțiilor bacteriene extracelulare (cu streptococ, stafilococ), dar enzimele lizozomale eliberate produc implicit digestia enzimatică a membranelor bazale (artrita, vasculita, glomerulita, coroidita etc).

Cel mai simplu model experimental al leziunii prin imunocomplexe este fenomenul Arthus: la animale cu anticorpi (IgG) circulanți injectarea în

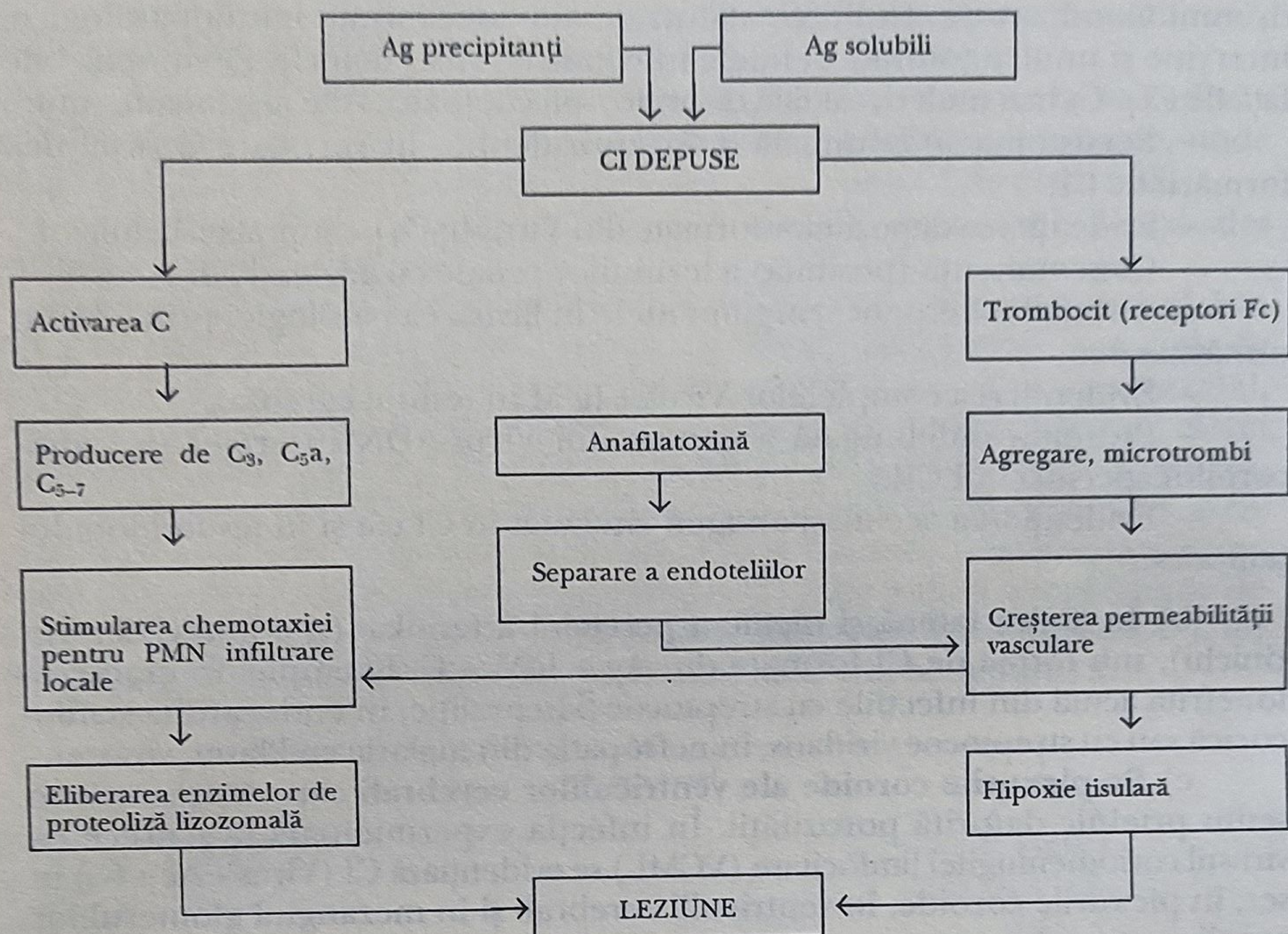


Fig. 74. Principalele activări produse de CI depuse.

piele a Ag produce o reacție inflamatorie locală (cu edem și congestie) care poate ajunge până la hemoragie centrală sau chiar necroză. Reacția e produsă de activarea sistemului complementului și a PMN, producând necroza fibrinoidă a vaselor.

Eliminarea CI precum și altor produse locale are loc după declanșarea inflamației și chiar a leziunilor, dar clearance-ul imunocomplexelor nu duce la vindecare, deoarece inflamația avansată și necroza fibrinoidă evoluează obligator către fibroză. Singura excepție o reprezintă boala serului, unde nu sunt afectate sever țesuturi viscerale.

S-ar putea pune întrebarea aparent justificată: dacă etapele imunopatologiei prin CI se succed atât de stereotip, din ce cauză exprimarea clinică a bolii este diversă? Explicația rezidă în elementele variabile din desfășurarea mecanismului: timpul de producere a CI, natura procesului infecțios, structura fizică și chimică a complexelor, terenul genetic. Astfel, în artrita reumatoidă se produce activarea cronică a C, autoanticorpii și CI reacționând cu țesuturi ale spațiului articular. În LED, CI sunt formate din ADN-anti ADN care se depozitează în diferite țesuturi (glomeruli, sinovială, colagen în spațiile somatice și viscerale etc.).

Tabelul 8

Principalele entități prin CI în patologia infecțioasă

Forme de manifestare	Particularități
Boala serului	Apare ca o complicație a seroterapiei heterologe (ser antidifteric, antitetanic, anticărbunos); CI formate produc reacție inflamatorie cu glomerulonefrită, artrite, uneori și cu alte localizări (coronariene, cutanate). În formele foarte severe se produc proliferări endoteliale ce pot duce la necroză fibrinoidă prin aflux masiv de PMN. Prin imunofluorescență se identifică complexe Ag + Ig + C_3 cu dispoziție granulară
Glomerulonefrită acută postinfecțioasă	Depunerea de CI + C_3 are loc pe MBG ca urmare a multiple etiologii. Frecvent se adaugă și agresiune T-dependentă
Endocardita bacteriană	CI se depun vascular, renal, cardiac
Infecția cu stafilococ a țesuturilor atrioventriculare	CI se depun endocardic și vascular
Sifilisul secundar	CI se depun vascular, tegumentar, polivisceral
Lepra lepromatoasă	Antigenemia cronică (prin eliminări repetate din Mf) produce boală cronică prin CI, cu depuneri (și leziuni) renale (cu proteinurie), tegumentare, articulare, oculare
Coriomeningita limfocitară benignă	Intervin mai multe mecanisme, între care CI depuse pe plexurile coroide și în rinichi
Infecția cu Plasmodium malariae	La copiii din Africa vestică, apare o nefrită severă prin CI formate din Ag malaric și Ac-specifici
Anemia infecțioasă equină	CI afectează membrana eritrocitară
Infecția cu virusul hepatitei B	Atât în infecția acută cu virus B cât și în cea cronică se formează CI, care însă nu joacă rol în leziunile hepatice ci doar în unele manifestări extrahepatice (erupție, artralgii, febră, nefropatie)
Infecția cu virusul leucemiei murine	CI se dezvoltă spontan la șoarecele New Zeland Black (NZB)
Tripanosomiaza africană	CI se depun vascular, renal, în cord, sistem nervos
Pneumonita prin fungi saprofiți	CI se formează în alveole după contactul repetat cu fungi saprofiți; se produce o inflamație severă ce poate ajunge până la detresă respiratorie
Denga hemoragică	CI se depun renal, tegumentar
Otite pneumococice, stafilococice	CI se depun local, determinând inflamație cronică

2.4. CITOTOXICITATEA UMORAL MEDIATĂ (B)

Acţiunea citotoxică a anticorpilor este diferită de la o clasă la alta de imunoglobuline, astfel:

IgG se pot lega cu antigenele, formând complexe macromoleculare care fixează complementul; după cum s-a arătat, în anumite condiţii complexele Ag-Ac-C pot produce inflamaţie severă, cu acumulare de PMN, ajungându-se la necroză tisulară, la alterarea barierelor, dezorganizarea arhitecturii celulare.

Tot IgG îşi pot exercita citotoxicitatea prin lezarea membranelor, după interacţiunea cu receptorii Fc ai PMN, Mf, monocitelor, eozinofilelor sau trombocitelor care posedă asemenea receptori, devenind astfel efectori imunopatologici pentru aceste membrane pe care le lizează. Prin definiţie, limfocitele K sunt furnizori ai receptorilor Fc-citotoxici.

Atât IgG (mai mult) şi IgM (mai puţin) pot interacţiona cu C1q, prin care este activat sistemul C pe cale clasică, inducând efectul citotoxic-citolitic. El constă în liza membranelor celulare anticorpic sensibilizate prin intermediul fracţiunilor litice C5b, 6, 7, 8, 9.

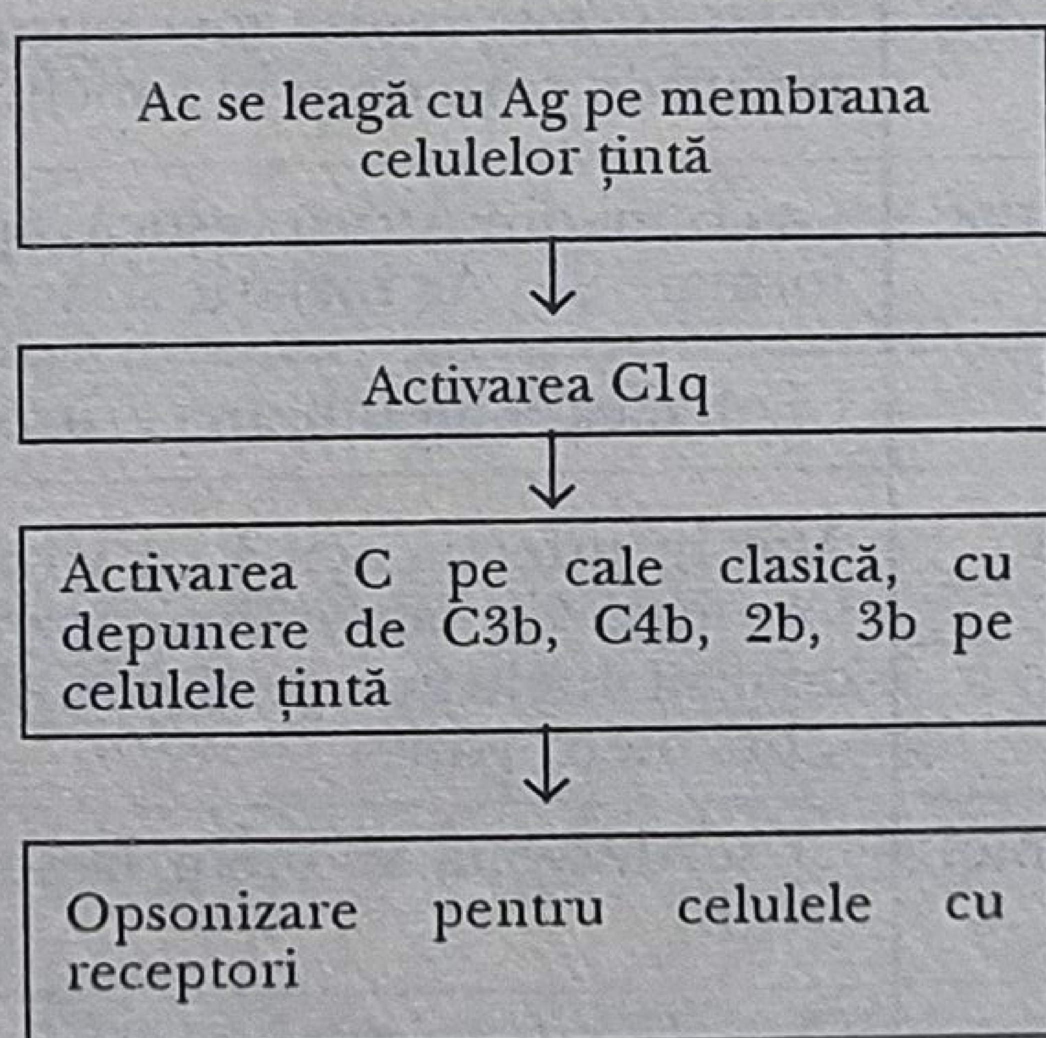


Fig. 75. Citotoxicitatea Ac-mediată C1q-dependentă.

Complementul poate fi activat şi pe cale alternă: calea litică este iniţiată de C5-convertază, producându-se lezarea membranelor prin fracţiunile terminale (C5 – C9).

Anticorpii IgM deşi se pot cupla cu C, au un rol patogenic mai redus (în comparaţie cu IgG), ca urmare a concentraţiei mai scăzute în circulaţie.

Anticorpii IgE, după cum s-a arătat, se leagă cu Ag și produc activarea mastocitelor și bazofilelor, produc degranularea mastocitelor cu eliberare de mediatori și creșterea permeabilității vasculare fără infiltrație celulară (cu excepția eozinofilelor), ceea ce explică absența modificărilor reziduale.

Reacția citotoxică-citolitică anticorpic-dependentă determină leziunea celulară fie prin alterarea funcțional-structurală a membranelor, fie prin opsonizare: celulele acoperite cu Ac și cu componente ale complementului, devin mai susceptibile la fagocitoză.

Efectul citolitic se exercită fie asupra agenților patogeni, fie asupra celulelor organismului. Mai frecvent sunt afectate celulele circulante (aflate în suspensie), deoarece intră mai ușor în contact cu anticorpii și cu fracțiunile complementului. Țesuturile solide (parenchimatoase), sunt mai rar afectate.

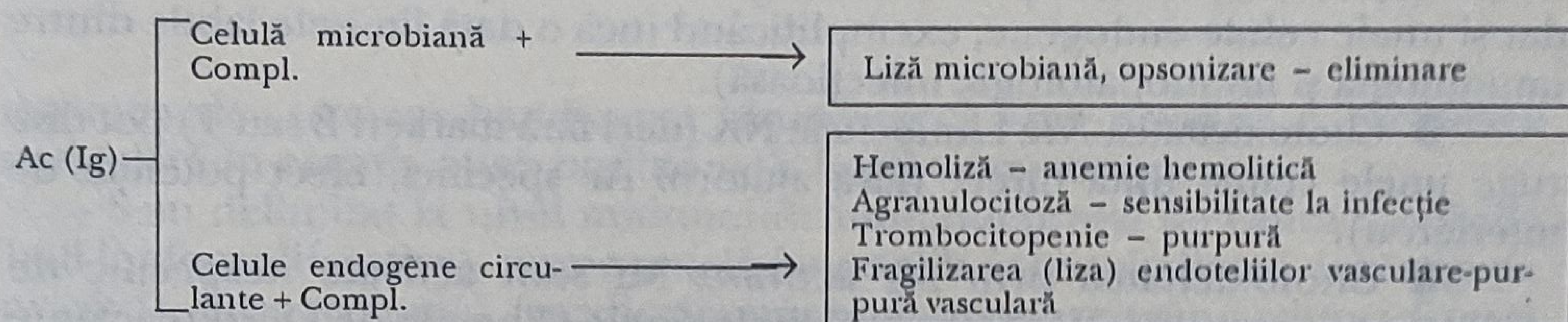


Fig. 76. Citotoxicitatea Ac-dependentă în funcție de substrat.

Rezultă deci că, reacția de citotoxicitate Ac-dependentă este favorabilă (protectoare) atunci când este direcționată asupra agentului infecțios (prin efect bacteriolitic direct sau prin activarea fagocitozei) și defavorabilă când efectul citolitic se exercită asupra celulelor endogene.

Citopeniile din infecția cu Mycoplasma pneumoniae sunt rezultatul unui efect citolitic anticorpodependent. Ele se corelează cu prezența crioaglutininelor și a altor anticorpi față de elementele figurate, existând, deci, un sindrom imunologic al neutrofilului și trombocitului, analog cu cel al anemiei hemolitice prin aglutinine la rece. Simular se produce trombocitopenia din mononucleoza infecțioasă, în care se evidențiază numeroși alți anticorpi față de elementele figurate (inclusiv leucoaglutinina).

2.5. CITOTOXICITATEA CELULAR MEDIATĂ (T)

Variantele sunt următoarele (23):

● Citotoxicitate *TC mediată:* după legarea specifică a Li T sensibilizate efectoare (TC-citotoxice) cu celulele țintă (prin receptori și cu consum ener-

getic, Tc eliberează granule cu enzime litice lizozomale, care produc leziuni ale membranei celulelor țintă și în final liza acestora. Li Tc se detașează și reiau ciclul.

● Citotoxicitate *TD mediată* (prin LI TD-delayed, de sensibilitate întârziată): Li Td specific sensibilizate (după transformarea blastică indusă de Ag), reacționează cu acesta fie aflat în stare solubilă, fie pe suprafața celulelor; se eliberează mediatori limfokinici și citotoxine care activează Mf ce distrug celulele țintă.

● Citotoxicitate celulară *Ac-dependentă* (CCAD): celulele Null (nesensibilizate specific – Li, PMN, Mf), deși au potențial citotoxic, nu pot acționa direct (prin lipsa sensibilizării). Prezintă în schimb pe suprafață receptorii pentru partea Fc a agregatelor de Ig (în special, IgG). În felul acesta „Null-cells" devin efectoare, deoarece prin intermediul Ac legați devine posibilă atașarea de celulele țintă și distrugerea lor (de pildă larvele de paraziți dar și unele celule endogene, exemplificând încă o dată limitele labile dintre imunologia și imunopatologia infecțioasă).

● Citotoxicitatea *NK*: Limfocitele NK (deci fără markeri B sau T) pot distruge unele celule țintă direct (fără ajutorul Ac specifici, efect potențat de interferon).

● Citotoxicitatea prin *Mf activate:* Mf sunt activate nespecific de endotoxine sau polinucleotizi sau de limfokinele eliberate de Li Td reactante cu Ag specifice; Mf devin citotoxice (Mfc), acționează cu celulele țintă și le distrug nespecific, ca urmare a faptului că sunt armate cu enzime lizozomale la nivel ridicat.

După cum rezultă din datele prezentate în capitolul 2, mecanismele hiperimune din bolile infecțioase nu diferă de cele cunoscute în imunopatologia generală, dar se particularizează prin variantele multiple corelate cu natura agentului patogen. Fără cunoașterea acestora poate fi înțeleasă cu greu fiziopatologia infecției, în perspectiva utilizării raționale a medicației imunomodulante (7).

3. IMUNODEPRESIA DE CAUZĂ INFECȚIOASĂ

3.1. ASPECTE GENERALE

Problema imunodepresiei secundare (dobândite) a devenit deosebit de actuală, o dată cu proliferarea și cunoașterea circumstanțelor generatoare de alterare a mecanismelor reactogene specifice și nespecifice. S-a edificat astfel

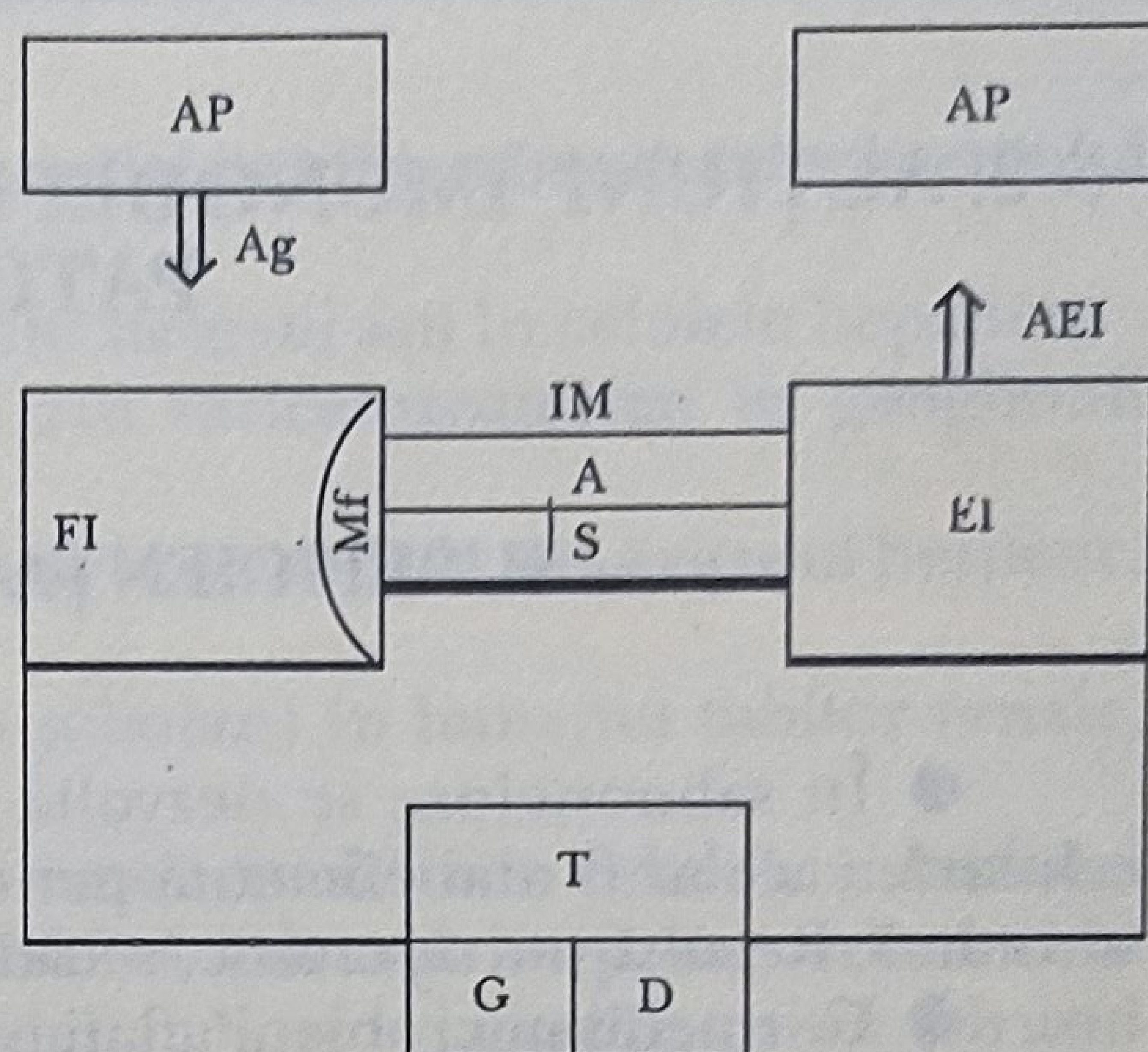


Fig. 77. Conține următoarele elemente: AP = agentul patogen (virusuri, bacterii, protozoare etc.); Ag = exercitarea antigenicității; FI = fazele inițiale ale mecanismelor imune (contactul, captarea, recunoașterea și formarea unităților antigenice; Mf = populația de macrofage cu rol imunoreglator (corelate funcțional cu subseturile de limfocite); IM = imunogeneza, imunoproliferarea (blastică) imunocooperarea; A = componenta activatoare; S = componenta supresoare; EI = efectori imuni T și B-dependenți; AEI = acțiunea efectorilor imuni asupra agentului patogen; T = factori de teren; G = terenul genetic, imunogenetic; D = terenul dobândit.

noțiunea de „pacient handicapat imunologic" care necesită o includere particulară în ecuația intercondiționată: boală-teren-terapie.

S-au delimitat la nivel mulțumitor imunodepresia de cauză medicală (boli limfoproliferative), nozocomială (condițiile intraspitalicești, investigație invazivă), farmacologică (medicația imunodepresoare prin acțiune directă sau indirectă), la care se adaugă factori nutriționali, biocronologici, socio-ecologici etc. (4).

Imunodepresia prin agenți infecțioși a fost cunoscută mai ales prin consecințele sale. Manualele clasice vorbesc deseori despre anergia postgripală, după unele boli eruptive sau după infecții catabolice. În perioada ultimilor ani însă, au fost consemnate o serie de achiziții consistente în domeniul cauzalităților, al mecanismelor intime de producere.

Luând în considerație numeroasele implicații practice ale imunodepresiei postinfecțioase pentru practica medicală, prezentăm o sinteză a principalelor date actuale, la care adăugăm și experiența colectivului nostru.

Cele două subcapitole fac referință la:

1. Agenți infecțioși generatori de subeficiența mecanismelor reactogene specifice.

2. Agenți infecțioși care induc alterări ale mecanismelor reactogene nespecifice (chemotaxie, opsonizare, fagocitoză, bacterioliză).

Întrucât limita dintre cele două forme majore de apărare antiinfecțioasă este labilă, vom semnala alternativele în care efectul depresor se exercită cooperant.

Criteriul cel mai convenabil de sistematizare a datelor a fost considerat cel care pornește de la etapele esențiale ale mecanismelor reactogene.

Astfel, pentru a ilustra variantele imunodepresiei am plecat de la un model general (fig. 77) (5).

În funcție de elementele de structură ale modelului general, imunodepresia de cauză infecțioasă se prezintă sub mai multe variante.

3.2. ACȚIUNI IMUNODEPRESOARE ALE AGENȚILOR PATOGENI

A. SUBEFICIENȚA ANTIGENICITĂȚII

● În salmoneloze se dezvoltă răspuns B-dependent, dar imunitatea celulară, care ar fi mai eficientă pentru ieșirea integrală din infecție, e slab stimulată. Rezultă portaj cronic, recăderi.

● Germenii microbieni aflați în etape neproliferative au antigenicitate diminuată, cu portaj cronic (de pildă purtători cronici de streptococi β-hemolitici, bacili difterici, la care devine dificilă și sterilizarea cu antibiotice.

● Infecțiile persistente cu adenovirusuri, virus EB, VSR, VCM se datoresc parțial și slabei antigenități (alături de alte mecanisme de imunodepresie directă). La un an de la primoinfecția cu VSR anticorpii devin nedecelabili și reinfecția se poate produce (26).

● Dificultatea debarasării de germeni în holera cu vibrion El Tor, în tuberculoză, lepră se explică tot prin stimularea subdenivelată.

● În unele infecții cu „virusuri lente" (Scrapie, Kuru, Creutzfeld – Jakob), prionii cu multiplicare lentă se corelează cu răspuns imun absent, nedetectabil prin mijloace curente.

● Din cele 83 de serotipuri de Streptococcus pneumoniae, 23 produc în jur de 90% din infecțiile pneumonice la om. Unele din serotipuri (de pildă 6A și altele) sunt slab antigenice (deși se pretează fagocitozei). Fenomenul este explicat prin variații de structură ale polizaharidului capsular (13).

● Virusul EB se poate prezenta ca o mutantă cu un antigen nuclear (K), ce nu produce imunostimulare prin lipsa de recunoaștere de sistemul imunitar, determinând forma cronică a infecției.

B. ANTIGEN IZOLAT

În alternativa în care sistemul imunoformator nu vine în contact cu incitația antigenică, nu se pot desfășura etapele inițiale ale mecanismelor imune (captarea, recunoașterea etc), sau acestea se află la intensitate scăzută. Întregul lanț al imunogenezei fiind subeficient, germenul va fi protejat față de acțiunea efectorilor imuni, mai ales atunci când „izolarea" e rezultatul poziției intracelulare a agentului infecțios.

Exemple:

- Cantonarea Listeriilor sau a Brucellei în Mf sau în celulele sistemului reticulo-endotelial;
- Localizarea parazitului malaric în hematii sau în celulele hepatice;
- Persistența virusului herpetic sau varicelozosterian în ganglionii spinali;
- Izolare prin absența răspândirii de la o celulă la alta (virusul herpetic, virusul rujeolic cu replicare defectivă);
- Multiplicarea leptospirelor (la șobolan) în lumenul tubilor renale, protejată de acțiunea anticorpilor;
- Unele microorganisme trec în emonctorii unde celulele sistemului imun ajung în proporții insuficiente: salivă (virusul herpetic, urlian citomegalic), lapte (virus citomegalic, Brucella abortus la vacă), urină (virusul citomegalic, virusul poliomei la șoareci). (16);
- Portajul cronic de Salmonella typhi se explică (printre altele) și prin colonizarea în arii slab vascularizate, cu concentrații anticorpice și de limfocite T scăzute (tractul biliar, urinar).

C. SISTEM IMUN DERUTAT

Este situația în care oferta antigenică este multiplă și schimbătoare. Agentul patogen prezintă variații în structura antigenică față de care aparatul imunogen e pus în dificultate.

Exemple:

- Virusurile gripale, care reapar în răstimp scurt sub diferite variații antigenice, găsesc grupele de populații fără experiență imunologică față de noile variante. De aici rezultă și dificultatea în prepararea unui vaccin cu tipul actual implicat, în măsură de a intra în concurență cu viteza de difuzare a virusului gripal în populațiile fără anticorpi remanenți de la infecțiile anterioare.
- Streptococii, stafilococii, *E. coli* există sub diverse tulpini antigenice, ceea ce explică reinfecțiile cu tipuri diferite (erizipelul recidivant, piodermite recidivante, infecții urinare recidivante).
- În infecția cu *Borrelia recurentis,* după primul acces, la 5–10 zile se dezvoltă în circulație o mutantă antigenic distinctă; ea induce al doilea episod febril, ce durează până în momentul în care se formează noul set de anticorpi specifici.
- La metazoare s-au pus în evidență 60 de structuri antigenice (interne, cuticulare sau excretate-metabolice). Din aceste numeroase antigene numai un procent mic sunt imunogene (substanța C, antigenele polizaharidice,

glucido-peptidice). Din totalul anticorpilor formaţi doar 5–10% au acţiune antiparazitară. În plus, antigenele cuticulare (glicoproteice) se reînoiesc permanent odată cu cuticula, apărând noi structuri care derutează şi mai mult aparatul imunogen; anticorpii formaţi anterior întâlnesc noi structuri antigenice şi reîncep efortul imunogen sub influenţa unor noi stimuli ş.a.m.d. Efectul a fost identificat la majoritatea parazitozelor umane (inclusiv la unele protozoare).

D. IMUNODEPRESIE DIRECTĂ

Exemple:

● Ca rezultat al replicării virale se produce o lezare directă a limfocitelor. Efectul poate viza fie toate clasele de limfocite (virusul rujeolic, parvovirusuri), fie un subset de celule (infecţia cu VIH, cu virusul EB). Limfocitopenia devine astfel markerul esenţial al imunodepresiei în infecţiile cu virusuri limfotrope.

● Virusul rujeolic scade răspunsul imunitar la tuberculină, la Candida, la toxoidul difteric, la virusul vaccinal (9). O situaţie similară s-a constatat în infecţia cu virusul Distemper canin, care creează o mare susceptibilitate la infecţii bacteriene secundare. Cauza e reprezentată de infectarea mai multor tipuri de limfocite, având ca rezultat o diminuare a răspunsului proliferativ la antigene şi mitogeni, cu o scădere a activităţii celulelor NK (natural killer), inhibiţia limfocitelor T-helper (cu diminuarea consecutivă şi a anticorpogenezei). Virusul stopează şi diferenţierea limfocitelor.

● Parvovirusurile produc în cursul diviziunii rapide o limfopenie intensă (panleucocitopenia felinelor), cu leziuni pronunţate ale sistemului limfoid şi imunosupresie de tip T.

● Virusul imunodeficienţei umane (VIH) produce infectarea unui subset de limfocite T; cunoscut anterior ca HTLV III, el infectează T_4 (fapt dovedit prin blocarea infectării prin anticorpi monoclonali faţă de T_4). Celulele T_4 sunt omorâte fie de virus, fie (posibil) ca rezultat al unui răspuns al gazdei; rezultă diminuarea celulelor T_4 circulante cu scăderea raportului T_4/T_8 de 8–10 ori. Limfopenia T_4 răspunde de marcata imunosupresie, ţinând cont de rolul central al T_4 în imunitate. Rezultă infecţii cu germeni oportunişti şi neoplasme cutanate (Sarcom Kaposi).

Pacienţii cu SIDA au o intensă anergie cutanată la numeroase antigene, o depresie marcată a răspunsului limfoproliferativ *in vitro* şi a sintezei de limfokine. Pe parcurs, germenii de suprainfecţie (V. herpetic, VCM, virusul EB), produc a doua undă de imunosupresie. Limfocitele B sunt aparent

normale, nivelul Ig este crescut, dar răspunsul anticorpic este aberant, neadecvat antigenelor specifice, ca și când ar fi activate policlonal.

Virusul EB este al doilea agent de infecție secundară în SIDA. El infectează primar limfocitele B, care sunt activate policlonal, ca în reacțiile imunopatologice.

Tabelul 9

Virusuri care produc imunodepresie prin acțiune directă asupra limfocitelor și macrofagelor (după Rouse și Horohov, 1986) (22).

Virus	Specia afectată	Li T	Li B	Li NK	Mf
Rujeolic	om	+	+	+	
Distemper	câine	+	+		+
Parvovirus felin	pisică	+	+		
HTLV 1	om	+	+		
HTLV 3	om	+			+
Retrovirus simian	maimuță	+	+	+	
VCM	om	+	+	+	+
Virus EB	om, șoarece	±	+		
Virus herpetic	om	+			
Virus gripal	om	+	+		

Infecțiile severe bacteriene deprimă anticorpogeneza, prelungind timpul de răspuns la antibiotice (7).

E. IMUNODEPRESIA MEDIATĂ PRIN MOLECULE VIRALE

Exemple:

● Retrovirusurile produc în genere imunosupresie intensă și prelungită încât alterarea mijloacelor reactogene poate ajunge până la neoplazie (VIH). Altele cauzează depresie imunitară prin elaborarea de molecule imunodeprescare cu diverse situsuri de acțiune. Virusul leucemiei feline determină o imunodepresie profundă și durabilă cu depleție limfoidă în ganglionii limfatici, abolire a răspunsului la mitogeni a limfocitelor T, limfopenie și o mare susceptibilitate la infecțiile intercurente cu germeni oportuniști. Replicarea virusului are loc cu precădere în limfocitul B, fără distrucția acestuia; în schimb produce alterări funcționale ale limfocitelor T-helper și T-supresor. Acest răspuns perturbat al limfocitelor T, e mediat de o proteină elaborată de retrovitus, denumită PI5 (E), după infectarea limfocitelor B. S-a demonstrat că PI5 (E) e singura componentă virală care scade răspunsul

blastogen limfocitar la o mare gamă de specii, inclusiv la om. S-a identificat și o PI5 (E) –like, produsă de retrovirusul murin, care acționează mai ales față de macrofag; ea inhibă și răspunsul monocitelor umane la stimulul chemotactic. Se admite că există diferite acțiuni ale PI5 (E) în funcție de virusul de proveniență (22).

● Factori serici blocanți s-au mai identificat la infecții cu virus herpetic, VCM și rujeolic (în PESS) etc.

F. IMUNODEPRESIA MEDIATĂ DE FACTORI ENDOGENI DOBÂNDIȚI

Nu se includ în această categorie depresiile imunitare legate „primar" de teren (neoplazii, limforeticuloze, după tratamente imunodepresoare) ci doar alternativa în care acțiunea depresoare e exercitată tot de agentul patogen, condiția de teren devenind o circumstanță favorizantă.

Exemple:

● Interferonii nu au numai acțiuni antivirale; în ultimii ani s-au identificat la aceștia numeroase alte acțiuni, între care și inhibiția replicării celulare. Imunodepresia este rezultatul uneia din activitățile anticelulare ale IFN. Numeroase cercetări au arătat că IFN poate inhiba atât imunitatea celulară cât și umorală, precum și răspunsul la mitogeni; *in vivo* și *in vitro* IFN–γ e de 10–100 ori mai supresiv decât IFN α și β. Limfopenia din infecțiile cu virusul gripal, Newcastle, stomatitei veziculoase e mediată de IFN, efectul putând fi suprimat prin antiseruri față de IFN. O primă infecție experimentală cu virusul coriomeningitei limfocitare sau cu virus Newcastle, mari producători de IFN, determină un răspuns imun diminuat la o a doua infecție cu virus vaccinal, cu scăderea funcției limfocitului T-citotoxic specific la virus vaccinal. Inhibiția limfocitului T-citotoxic se corelează cu nivelul de IFN indus, iar administrarea de inductori de IFN reproduce efectul. Între mecanismele intime (celulare) se implică alterări ale fosfolipidelor membranare în exprimarea receptorilor Fc pe membrane, modificări în transporturile ionice etc.

● Infecțiile bronșice repetate determină modificări ale proprietăților vâsco-elastice și reologice în funcție de cantitatea de glicoproteine și mucine secretate. Consecința va fi diminuarea raportului IgAs/serum-albumine paralel cu creșterea numărului de episoade infecțioase, cu diminuarea mecanismelor de apărare locală față de infecțiile bacteriene (19).

● Fumatul se asociază (mai ales la tineri) cu o severitate mai mare a gripei, rinovirozelor, infecțiilor paragripale, cu coronavirus, prin alterarea răspunsului la limfokine (21).

G. IMUNODEPRESIA MEDIATĂ DE FACTORI DE TEREN GENETICI

Alternativa se include în sistemul propus nu atât prin receptivitatea crescută ci prin accentuarea depresiei induse de agentul patogen, imprimând o evoluție particulară infecției.

Exemple:

● Deficitele în genele codante ale biosistemului complementului (clasa a III-a a cromosomului 6) se asociază astfel:

C1r: cu infecții repetate, glomerulonefrite focale
C2: cu nefrite, infecții repetate, dermatită herpetiformă
C3, C5: infecții recurente
C6: artrită gonococică, meningocemie (cu evoluții trenante, severe)
C7: infecții recurente
C8: infecții cu coci gram-negativi trenante

● Alte asocieri posibile (sinteză după Dragomirescu, 1989) (5):

Receptivitatea la polivirus se corelează cu cromozomul 19;

Răspunsul subeficient la vaccinarea antirubeolică se corelează cu HLA–A9;

Infecțiile respiratorii cu distrucție proteolitică a țesutului pulmonar sunt corelate cu deficitul congenital în α_1-antitripsină;

Astmul infantil postinfecțios e corelat cu HLA-A1, B8, Bw40;

Receptivitatea la virus hepatitic B și absența debarasării de virus: HLA-Bw15, Bw 35; Cw4 se corelează cu răspuns slab la imunostimulante (4).

Scleroza multiplă post-virală se asociază cu HLA-A3;

Infecția cu Yersinia enterocolitica asociată cu artropatii se corelează cu HLA-B27;

Enteritele severe se corelează cu deficit în G6PD;

Determinanții genetici ai grupei Duffy (Fy^a și Fy^b) se corelează cu receptivitatea la *Plasmodium vivax.*

Bruceloza asociată cu sindrom hemolitic se corelează cu deficitul genetic în G6FD etc.

H. IMUNODEPRESIA MEDIATĂ DE MACROFAGUL IMUNOREGLATOR

Plasarea Mf în etapele inițiale ale imunogenezei este justificată. Deși morfologic nu se pot deosebi, există cel puțin două tipuri funcțional distincte de macrofage (Rouse și Horohov, 1986) (22).

● Tipul microbicidal şi citocidal.

● Tipul imunoreglator, de cooperare cu subseturi de limfocite (deci Mf de subseturi distincte).

Prin aceasta, Mf participă în numeroase procese imune: fagocitarea de bacterii, virusuri şi imunocomplexe, acţiune bacteriostatică şi microbicidă, liza celulelor infectate cu virus, captarea de antigene şi fragmentarea lor, prezentarea de antigene unor subseturi de limfocite, elaborarea de molecule imunoreglatorii (interleukina 1 şi IFN), citotoxicitate anticorpo-dependentă, activitate supresoare etc.

Exemple:

● Infecţia cu VCM inhibă interleukina 1 macrofagică, în vreme ce virusul gripal sau cel al leucemiei feline nu are acest efect. Scăderea interleukinei 1 generează un inhibitor care deprimă funcţia monocitelor infectate.

● Macrofagele infectate cu virusul LDH şi al leucemiei murine Moloney devin incapabile să prezinte antigenele limfocitelor respective.

● Poliovirusul, arenavirusurile şi virusul vaccinal produc supresie minimă mediată de Mf.

● Denga induce elaborarea de către Mf a unui factor citotoxic care afectează funcţia limfocitelor T. Mecanismul supresor mediat de macrofage nu este cunoscut (se exercită cu probabilitate prin IFN şi prostaglandine).

Efectele activatorii (A) sau supresoare (S) ale macrofagelor depind de terenul imunogenetic, de vârstă, de zona anatomică de provenienţă a acestora etc.

I. IMUNODEPRESIA PRIN STIMULAREA CELULELOR SUPRESOARE

Răspunsul la un antigen este rezultatul balanţei unui mecanism activator cu unul supresor, al relaţiei dinamice între celule şi mediatori cu acţiuni sinergice sau antagonice. Latura supresoare este dominată de celulele supresoare (CS), dar supresia mai depinde şi de starea fizico-chimică a antigenului, de calea de administrare şi de terenul genetic al gazdei.

Exemple:

● Virusul herpetic, Senday, gripal, reovirusurile (şi altele) induc toleranţa mediată de limfocite T-supresoare, virus specifică. Astfel injectarea la animal de virus herpetic este urmată de toleranţă faţă de hipersensibilitatea întârziată virus-herpetic – specifică, mediată de CS. Şoarecele făcut tolerant pe această cale e mai puţin abil de a elimina virusul.

● La om, această modalitate de imunodepresie este implicată în infecţia cu VIH, virus herpetic, virus Epstein-Barr, VCM; modelul este următorul (Rouse şi Horohov, 1986): activarea celulelor T cu mitogen sau antigen duce la producerea de CS cu scăderea răspunsului proliferativ (cel mai des efectul se traduce prin diminuarea raportului T_4/T_8-normal 3/).

● În coriomeningita la șoarece și în unele viroze persistente sunt implicate CV (veto-cells), înrudite cu CS, care participă la imunosupresie inhibând diferențierea unor tipuri de limfocite.

● În infecția stafilococică care produce sindromul șocului toxic prin *toxina 1*, s-a pus în evidență o activare a subsetului de limfocite T-Ig-supresoare (17).

J. SUBEFICIENȚA EFECTORILOR IMUNI

Este situația în care anticorpii se formează dar sunt direcționați față de structuri ale agentului patogen neesențiale în procesul de inactivare sau liză a acestuia.

● În infecția luetică, anticorpii bacterioneutralizanți au un efect antispirochetal slab. În schimb, anticorpii de imobilizare bacteriană (celular dependenți), care ar putea avea eficiență, sunt deprimați de multiplicarea și difuzarea treponemelor, iar limfocitele activate devin inoperante. În secundarismul tardiv reapare o activare a limfocitelor T (cu pozitivarea țesutului cutanat de hipersensibilitate tardivă) formându-se granuloame, ca expresie a limitării infecției (ca în tuberculoză, bruceloză) (16).

● În malarie, tripanosomiază și în genere în majoritatea parazitozelor se formează o cantitate mare de anticorpi, dar numai un procent redus sunt îndreptați împotriva parazitului. În coccidioză răspunsul anticorpic este ridicat, dar imunitatea celular indusă care ar fi utilă pentru efectul fungicid este subeficientă. În leishmaniaza viscerală răspunsul celular mediat scăzut este corelabil cu răspândirea sistemică și cronicizarea în ciuda unui nivel ridicat anticorpic. Din aceste insuficiențe ale efectorilor imuni rezultă următoarele forme de imunitate în parazitoze (3).

– Absența imunității, în tripanosomiază, ankilostomiază, leishmaniaza viscerală, infestația cu *Entamoeba histolytica*.

– Imunitatea nesterilă (premuniția), în toxoplasmoză, schistosomiază, malarie.

– Imunitatea de etapă (asupra formelor de invazie dar nu adulte).

K. EFECTORI IMUNI DEVIAȚI

Este alternativa în care răspunsul B sau T-dependent se produce la nivel mulțumitor (sau chiar supranivelat), dar efectorii imuni reacționează mai puțin cu agentul patogen și mai mult (mai puternic) cu structuri modificate membranare ale organismului – imunitate încrucișată (cross-reacție).

Exemple:

● Virusul hepatitei B (încorporat în membrana hepatocitului celulei gazdă) sau virusul gripal (încorporat în celulele epiteliului căilor respiratorii) ajung să conțină – parțial – antigene endogene polipeptidice, lipoproteice, glicoproteice; se induce astfel o direcționare a efectorilor imuni față de celulele purtătoare de virus (hepatocite, epiteliu respirator) ajungându-se la necroză celulară (6. 11).

● Virusul EB poate duce – prin mecanism similar – la leziuni imunopatologice ale timusului fetal, *Mycoplasma pneumoniae* la anemie hemolitică prin criglobuline. Insuficiența autosterilizării se însoțește de reacții imunopatologice.

Dealtfel, concomitența „spontană" de antigene care pot devia răspunsul imun pare a fi foarte răspândită în natură, ridicând probleme complexe bioecologice. Astfel, de pildă, antigenul Forssman (care e un glicosfingolipid) s-a evidențiat la cel puțin 8 specii animale, în numeroase țesuturi (endotelii vasculare, viscere, sânge). *Toxoplasma gondii* prezintă antigene comune cu cel puțin 4 specii animale ș.a.m.d. (28).

3.3. ACȚIUNI INHIBANTE A AGENȚILOR INFECȚIOȘI ASUPRA APARATULUI FAGOCITAR

A. INHIBIȚIA ETAPELOR PREFAGOCITARE SUB INFLUENȚA DIRECTĂ A AGENTULUI PATOGEN

Exemple:

● Densitatea microbiană mare e factor limitativ pentru opsonizare. Densitatea mare virală duce la scăderea funcției de captare, ceea ce va scădea și intensitatea decapsidării în SRE.

● Cantitatea crescută de endotoxine circulante saturează funcția de captare a SRE pentru complexele Endotoxină-Anticorpi, Endotoxină-Proteine.

● În candidomicozele cronicizate scade migrarea monocitară.

● În septicemii scade chemotactismul direcțional.

● Germenii Gram-negativi și brucelele inhibă un factor de mobilizare a PMN („colony stimulating factor").

● Streptolizinele inhibă chemotaxia direcțională.

● Depunerea de fibrină precipitată pe suprafața stafilococului sub influența coagulazei, duce la scăderea suprafeței de abord pentru celulele fagocitare.

● Micoplasmele patogene, *Toxoplasma gondii*, proteina A stafilococică inhibă imunoaderența.

● *Bordetella pertussis* posedă un factor membranar de inhibare a migrării polinuclearelor, elaborat de germenii din faza I-a.

● Unele infecții virale (cu V. gripal, herpetic) afectează Mf alveolar prin supresia chemotaxiei. Experimental, virusul gripal, herpetic și cel al diareii bovine inhibă răspunsul macrofagului la stimuli chemotaxici, în vreme ce virusul vaccinal, poliovirusul sau reovirusul produc un răspuns normal. Acțiunea se exercită asupra receptorilor specifici de suprafață care mediază chemotaxia și motilitatea celulară, la care se adaugă scăderea opsonizării prin acțiuni asupra receptorilor Fc și pentru C3b.

● *Streptococcus pneumoniae* poate bloca receptorii pentru complement (CR1 pentru C3 și iC4b, pentru iC3b) (Gordon, 1986). Diferențele de structură ale capsulei pot modifica atașarea C3b covalent pe suprafața pneumococului, explicând diferențele de rezistență la fagocitoză (12).

B. INHIBIȚIA ETAPELOR FAGOCITARE (LITICE) SUB INFLUENȚA DIRECTĂ A AGENTULUI PATOGEN

Exemple:

● Endotoxinele și neurotoxinele de enterobacteriacee în exces alterează mecanismele energetice ale PMN și Mf cu diminuarea randamentului fagocitelor prin inhibiții enzimatice.

● Unele virusuri care pretează la viremie celulară (virus polio, rujeolic), fiind transportate de polinucleare, determină și o scădere a acțiunii fagocitare a acestora.

● Activitatea hidrolazelor lizozomale operează în favoarea reovirusurilor, eliberând miezul („core"), pe baza căruia se face replicarea virală. La fel, germinarea sporilor clostridiali în leucocite e favorizată de expunerea la conținutul enzimatic lizozomal, rezultat din degranularea lizozomilor.

● Un mare număr de germeni eliberează factori (substanțe) care scad randamentul fagocitozei: streptococul (proteina M), *Lysteria monocytogenes*, *Bacteroides fragilis* și *melaninogenicus*, enterobacteriacee (antigenele K, Vi), Mycoplasma. Alți agenți infecțioși produc distrugerea autolitică a celulelor fagocitare: toxinele de *B. anthracis*, stafilococi (hemolizine, leucocidine, colagenaze, elastaze etc). Formele virulente de *Entamoeba histolytica* eliberează la contactul cu polinuclearele o substanță care scade motilitatea, produce degranularea și liza leucocitară (4).

● Agenţi patogeni care persistă viabili în celulele fagocitare: B. leprei, unele salmonele, *Chlamidii, Mycobacterii, Brucella, Listeria* etc, eliberează substanţe ce le conferă rezistenţă la enzimele lizozomale ale fagocitelor (streptococii grupa A = carbohidratul parietal, *Mycobacterium leprae* = micosidul hidrofob etc).

● Germeni rezistenţi la fagocitoză prin structuri de suprafaţă: capsula (10 pneumococi incapsulaţi sunt echivalenţi cu 10.000 de pneumococi necapsulaţi în producerea efectului letal la şoarece). Alte exemple: *Haemophylus influenzae, Klebsiella, B. anthracis, Pseudomonas, Cryptococcus.*

● Germeni care tolerează înglobarea dar se opun fuzionării fagozomilor cu lizozomii: *Mycobacterium tuberculosis* (prin lipidele hidrofobe – ftiocerol, dimicocerosat), *Aspergillus, Toxoplasma* (în Mf), Cryptococcus, unele tulpini de stafilococ (în SRE).

● Bacterioliza la *Neisseria gonorrhoeae* e efectuată de sistemul antimicrobian nonoxidativ (0_2-independent), mediat de proteinele cationice din granulele citoplasmatice al PMN. Mutante de N.G. care au structuri lipopolizaharidice membranare (LPS) modificate, au rezistenţă crescută faţă de tulpina-mamă (de pildă, proteine granulare de 24–25,5 KDa au activitate pe anumite structuri LPS, cele de 37–57 KDa pe alte structuri LPS((24).

● Toxina tetanică inhibă secreţia de enzime lizozomale în Mf proporţional cu doza.

● Micobacteriile produc leziuni ale fagosomilor în PMN şi Mf (14).

● *E. coli* care prezintă pili de tip 1, aderă la PMN şi sunt fagocitate în absenţa opsoninelor (activare nonopsonică a PMN). Prezenţa pililor însă induce o mai mare rezistenţă la efectul bactericid, probabil prin scăderea activităţii mieloperoxidazei din fagolizozomi (11).

Trebuie subliniată însă şi alternativa în care acţiunea agenţilor patogeni asupra leucocitelor depinde de doză. Astfel, toxinele de *Clostridium perfringens* (fosfolipaza C şi hemolizina oxigenlabilă), la doze mici produc stimulare iar la doze mari inhibiţie cu alterări morfologice leucocitare.

C. INHIBIŢIA ETAPELOR PREFAGOCITARE DE CĂTRE AGENTUL PATOGEN ÎN CONDIŢII FAVORIZANTE DE TEREN

Exemple:

● Acţiunea la distanţă a infecţiei: bolnavii cu infecţii extrapulmonare severe şi cu un grad de imunodepresie dezvoltă deseori pneumonii cu germeni Gram-negativi, care cresc sensibil letalitatea. Apărarea antibacteriană pulmonară e asigurată de Mf alveolar, faţă de germenii Gram-pozitivi şi de PMN-recrutate din circulaţie faţă de germenii Gram-negativi. Fagocitoza

intrapulmonară a germenilor Gram-negativi e afectată când mobilizarea din circulație a PMN e scăzută. Bolnavii cu infecții extrapulmonare au deseori o capacitate scăzută de recrutare a PMN în plămâni, aceasta fiind o explicație plauzibilă pentru relația de interdependență între infecțiile extrapulmonare și pneumonia cu germeni Gram-negativi. Experimental, peritonita cu *E. coli* crește receptivitatea la pneumonia cu *Pseudomonas aeruginosa,* cu scăderea proporțională de recrutare a PMN. Acțiunea se exercită mai ales prin afectarea C3, C3b, C5, a proceselor de opsonizare și chemotaxie și nu prin sechestrarea PMN în zona infecției peritoneale (27).

● Persoanele, cu deficit genetic în receptori pentru complement pe neutrofile, sunt expuși la piodermite persistente, infecții bacteriene recurente, paralel cu insuficiența orientării chemotactice și cu deficit în citotoxicitatea anticorpodependentă (12).

D. INHIBIȚIA ETAPELOR INTRACELULARE (LITICE) DE CĂTRE AGENTUL PATOGEN ÎN CONDIȚII FAVORIZANTE DE TEREN

Exemple:

● Deficitele genetice ale unor fracțiuni ale complementului sau ale receptorilor specifici (CR3), produc nu numai blocul chemotaxiei dar și inhibiția sintezei de mediatori ai efectului bactericid (superoxid, mieloperoxidază, lactoferină).

● În unitățile de terapie intensivă, bolnavii supuși inhalării unor concentrații mari de 0_2, devin mai susceptibili la infecții respiratorii. Hiperoxia induce această receptivitate sporită prin mai multe mecanisme: alterarea funcției Mf alveolar, tulburări ale escalatorului mucociliar, edemul pulmonar interstițial, dar mai ales prin scăderea funcției de clearance a bacteriilor Gram-negative prin PMN. Experimental, expunerea animalelor la hiperoxie duce la o alterare a clearance-ului PMN față de *Ps. aeruginosa,* asociată cu o scădere a numărului de PMN în compartimentul alveolar (8).

● Fumatul crește riscul și severitatea infecțiilor virale ale aparatului respirator mai ales la tineri, cu referire specială la virusul gripal, bronșitele cronice cu etiologie mixtă (rinovirusuri, virusuri paragripale, VSR, Coronavirus). Virusurile citate răspund de cel puțin 1/3 din exacerbările de bronșită cronică. Cauza principală este alterarea răspunsului Mf alveolar la limfokinele antivirale, dar se adaugă și o depresiune a activității fagocitare, în etapa fuziunii fagolizozomilor. Probabil că intervine un mecanism metabolic (diminuarea activității enzimelor oxidative, ATP-azei, nivelul glucozo-3-fosfat dehidrogenazei).

Evident, exemplele care se corelează cu subeficiența răspunsului imun, pot fi mult amplificate cu numeroși alți agenți patogeni, dar am preferat să

rămânem în sfera care interesează în etapa actuală imunologia și imunopatologia infecțioasă.

Considerăm că o asemenea sistematizare, cu toate imperfecțiunile sale, este totuși necesară, mai ales în vederea utilizării mai judicioase a medicației imunomodulante. Caracterul empiric al folosirii acestor preparate nu poate fi eliminat decât prin identificare cu maximum de precizie a secvențelor din lanțul imunopatogen care sunt afectate de factorii ce țin de micro- sau macroorganism, ca etapă premergătoare selectării imunomodulantului adecvat (4).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. BACH J.F. – *Immunology* Edit. John Willey (New York), 1978.
2. BESSLER W.G., HAN SCHILDT S. – *Forum Mikrobiologie*, 1987, 4/10, 106–112.
3. CAMUS D., CAPRON A. – *Acta Gastroent. Belg.* 1980, 43, 17–30.
4. DRAGOMIRESCU M. – *Terenul și Infecția*, Edit. Academiei R.S.R. (București) 1988, 178–259.
5. DRAGOMIRESCU M. – *Bacteriologia* (București) 1989, 1/34, 3–14.
6. DRAGOMIRESCU M., NOVAC E., BUZINSCHI S. – *Patogenia infecțiilor*, Edit. Facla (Timișoara), 1980.
7. DRAGOMIRESCU M., PINTEA RODICA, MARTINCU V., STOENESCU D. – *Bacteriologia* (București), 1985, XXX/3, 245–254.
8. DUNN M.M., SMITH L.J. – J. Infect. Dis., 1986, 153/4, 676–682.
9. FIREMAN P., FRIDAY G., KUMATE J. – *Pediatrics*, 1969, 43/2, 264–272.
10. GASTANADUY A.S., KAPLAN E.L., HOWE B.B., MOKAI C., WANNAMAKER L.W. – *Lancet*, 1980, 1, 498–501.
11. GOETZ M.B., KURIYAMA S.M., SILVERBLATT F.J. – *J. Infect. Dis.*, 1987, 156/1 229–233.
12. GORDON D.L., JOHNSON C.M., HOESTETTER M.K. – *J. Infect. Dis.*, 1986, 154/4, 619–625.
13. HOESTETTER M.K. – *J. Inf. Dis.*, 1986, 153/4, 682–692.
14. KANAI K., KONDO E., YASUDA T. – *Japan J. Med.* Sci, Biol., 1979, 32 315–325, 327–336.
15. MILLER G., GROGAN ELISABETH, ROWE D., ROGNEY C., HESTON L., EASTMAN R., ANDIMAN W., NIEDERMAN J., LENOIR G. – *J. Infect. Dis.*, 1987, 156/1, 26–34.
16. MIMS C.A. – *The Pathogenesis of Infectious Disease*, Edit. Academic Press (London), 1984.
17. POINDEXTER N.J., SCHLIVERT P. – *J. Infect. Dis.*, 1987, 156/1, 122–128.
18. PRUSINER S.B. – *Scientific American*, 1984, 4/241, 48–57.
19. PUCHELLE E., GIRARD F., BECK G., NAYEM A., BAILLEL V., LAINE A. – *Pharm. Biol.*, 1976, 24/2, 93–96.
20. ROITT I.M. – *Essential Immunology*, Blackusell Scientific publications (Oxford, London, Edingurgh), Sixth edition, 1988, 172–273.
21. ROSE R.M., WASSERMAN A.S., WEISER W.Y. – *J. Infect. Dis.*, 1986, 154/4 611–617.
22. ROUSE B.T., HOROHOV D.W. – *Reviev of Infectious Dis.*, 1986, 8/6, 850–868.
23. SELL S. – *Basic Immunology*, Ed. Elsevier (New York), 1987, 235–319.
24. SHAFER W.M., ONUNKA V., HITCHOCK P.J. – *J. Infect. Dis*,. 1986, 154, 1, 910–917.
25. STITES D.P., TERR A.I. – *Basic and Clinical Immunology*, Apollon-Lauge, 7th Edit, 1991, 78–101.
26. WELLIVER R.C., KAULT N., PUTNAM T.I., MARTHA SUN, RIDULESBERGER K., OGRA P.L. – *J. Pediatr.*, 1980, 96/5, 808–813.
27. WHITE I.G., NELSON S., WINKELSTEIN J.A., BOTH F.V. – *J. Infect. Dis.*, 1986, 150/2, 202–208.
28. YANO K., NAKABAYASHI T. – *Biken J.*, 1980, 23/2 193–198.

IMUNOPATOGENIA INFECȚIEI CU VIRUSUL IMUNODEFICIENȚEI UMANE (HIV)

Prof. dr. MIHAIL DRAGOMIRESCU
membru titular al Academiei de Științe Medicale

Clinica de boli infecțioase
Universitatea
de Medicină și Farmacie
Timișoara

INTRODUCERE

În problematica infecției cu HIV* s-a acumulat un cuantum mare de informații, dealtfel concordant cu incidența morbidă și complexitatea bolii. Pentru a rămâne în limitele structurale ale monografiei, vom face referință doar la imunopatogenia infecției cu virusul imunodeficienței umane (în sens strict fiziopatologic).

Dealtfel, caracterul adecvat al noțiunii de „imunopatogenie" (imunopathogenesis) în cazul infecției cu HIV a fost autentificat recent de *Poli, Pantaleo* și *Fauci*, la **„National Institutes of Health", Bethesda (Maryland)** (44).

În vederea unei înțelegeri mai lesnicioase a acestei probleme, sunt importante următoarele premise:

● Infecția cu HIV este esențial o perturbare imunologică complexă care se află în discordanță cu caracterul subclinic, silențios al evoluției pe o perioadă lungă de timp. Imunodeficiența în sine devine evidentă abia atunci când, ajungând a fi foarte profundă, permite invazia și proliferarea agenților oportuniști. În lunga etapă subclinică, virusul viețuiește izolat în ganglionii limfatici, în mononucleare sau în țesutul reticuloendotelial (15).

● „Demascarea" imunopatogenă se produce atunci când cantitatea de ADN-proviral crește critic (mai ales în mononuclearele periferice), paralel cu antigenul liber HIV p24 în circulație. Se creează astfel condiții pentru ca, din interrelația, devenită intimă, între virus și macroorganism, să se materializeze o serie de evenimente ce delimitează boala imunologică: scăderea populației limfocitelor CD4, modificarea raportului CD4/CD8, apariția anticorpilor (neutralizanți, antiglicoproteină), selectarea de tulpini HIV cu modificări fenotipice asociate cu mutații în compoziția anvelopei glicoproteice, apariția

---

*** Se preferă abrevierea cu cea mai mare circulație.**

virusului liber (cu viremie plasmatică, paralelă cu scăderea limfocitelor CD4 în sângele periferic).

● „Demascarea" clinică (și implicit aspectul sindromic al bolii) este rezultatul unui complex de factori, între care cei mai importanți sunt: imunodeficitul progresiv, colonizarea cu oportuniști, patomorfoza indusă de chimioterapia antivirală (reducerea frecvenței și severității infecțiilor secundare), și de cea adresată oportuniștilor (antimicrobiană, antiparazitară, antivirală). Această patomorfoză este complexă dar se reflectă mai ales prin influențarea pneumoniei cu *Pneumocystis carinii,* infecției cu *Criptococcus,* cu *Mycobacterii, virus citomegalic* (11).

● Progresele esențiale realizate în domeniul cunoașterii replicării virale s-au obiectivat nu numai în zona definirii etapelor imunopatogene dar și privind obiectivul principal al chimioterapiei; după numeroase tentative, s-a ajuns la concluzia după care chimioterapia anti-HIV, trebuie să aibe drept țintă principală ADN-polimeraza și ribonucleaza virală (reverstranscriptaza). Până la ora actuală, cel mai eficace mijloc în acest sens este reprezentat de analogii nucleozidici care, pe lângă faptul că acționează asupra reverstranscriptazei (și au profil farmacocinetic intracelular), prezintă și o serie de inconveniente și anume:

– nu acționează direct ci după metabolizare în 5' – trifosfați (prin kinaze, nucleotidaze sau alte enzime);

– implică riscul apariției de tulpini HIV-rezistente (de pildă la zidovudină), ca rezultat al achiziției de mutații aminoacidice ale reverstranscriptazei;

– analogii nucleozidici (zidovudina [azidotimidina]) – 3' azido – 3' – deoxitimidina, didanozina – 2' – 3' – dideoxiinozina sau ddI, 2', 3' – dideoxicitidina sau ddC) etc., devin competitivi cu 2' – deoxinucleozid – 5' – trifosfatul endogen în procesul de legare cu situs-ul activ al reverstranscriptazei HIV (53).

● În condițiile generalizării terapiei cu analogi nucleozidici, devine necesară o reevaluare a markerilor clinici și imunologici, deoarece numărul de limfocite CD4 este imperfect în delimitarea acțiunii antivirale. În acest sens devine evocatoare corelația dintre: slăbirea în greutate, rata infecțiilor oportuniste, funcția nervoasă, determinarea replicării virale **in vivo,** nivelul antigenului seric p24 (acid-disociat, a cărui scădere sub influența chimioterapiei antivirale nu evoluează paralel cu creșterea Li CD4), teste de replicare virală (Polimerase Chain Reaction), culturi plasmatice cantitative (11).

Rezultă deci că, imunopatogenia infecției cu virusul imunodeficienței umane se înscrie astăzi în parametrii diferiți față de cei acceptați în etapele anterioare, devenind necesară înțelegerea sa în concordanță cu circumstanțele și cerințele actuale, implicit cu cele corelate cu arealul diagnostic și clinico-evolutiv.

1. ETAPELE IMUNOPATOGENICE

1.1. INFECȚIA CELULARĂ PRIMARĂ ȘI SECUNDARĂ (TRANSFECȚIA)

Prima treaptă în declanșarea ciclului imunopatogenic în infecția cu HIV, e prezentată sintetic în Fig. 78, 79, 80 81.

Așadar, structurile de suprafață ale virusului joacă rolul esențial în etapa de recepție (adsorbție). Glicoproteina de suprafață (gp 120) interacționează ca spicul de legătură cu glicoproteina CD4 care se află pe suprafața tuturor celulelor cu afinitate pentru HIV (limfocite T, B, macrofagi, promielociți, mielociți, celule dendritice, astrocite, oligodendrocite, celule capilare endoteliale, celule epiteliale intestinale, celule Langherans din piele, celule enterocromafine intestinale și posibil celule prostatice și ale glandelor salivare), dar această afinitate este diferită, în funcție de densitatea moleculelor CD4. E posibil ca un oarecare rol să fie jucat și de receptorii specifici ai complementului. Glicoproteina 120 are două zone importante: situs-ul de recunoaștere al receptorului CD4 și bucla cu rol în fuziune. Situs-ul ligand e un pentapeptid cu structura: treonină – treonină – serină – tirozină – treonină. Glicoproteina transmembranară (gp 41) facilitează legarea gp 120–CD4 și participă la fuziunea dintre anvelopa virală și membrana celulară. Această primă etapă a infecției nu durează mai mult de cinci minute. Interacțiunea între gp 120 (regiunea V3) și CD4 decurge cu o mare afinitate ($\sim10^{-9}$M) și prezintă particularitățile biochimice ale relației adezină-receptor (A–R), cu specificarea că e independentă de pH iar pasajul intracelular se face prin fuziune membranar-mediată și nu prin endocitoză (așa cum se întâmplă în

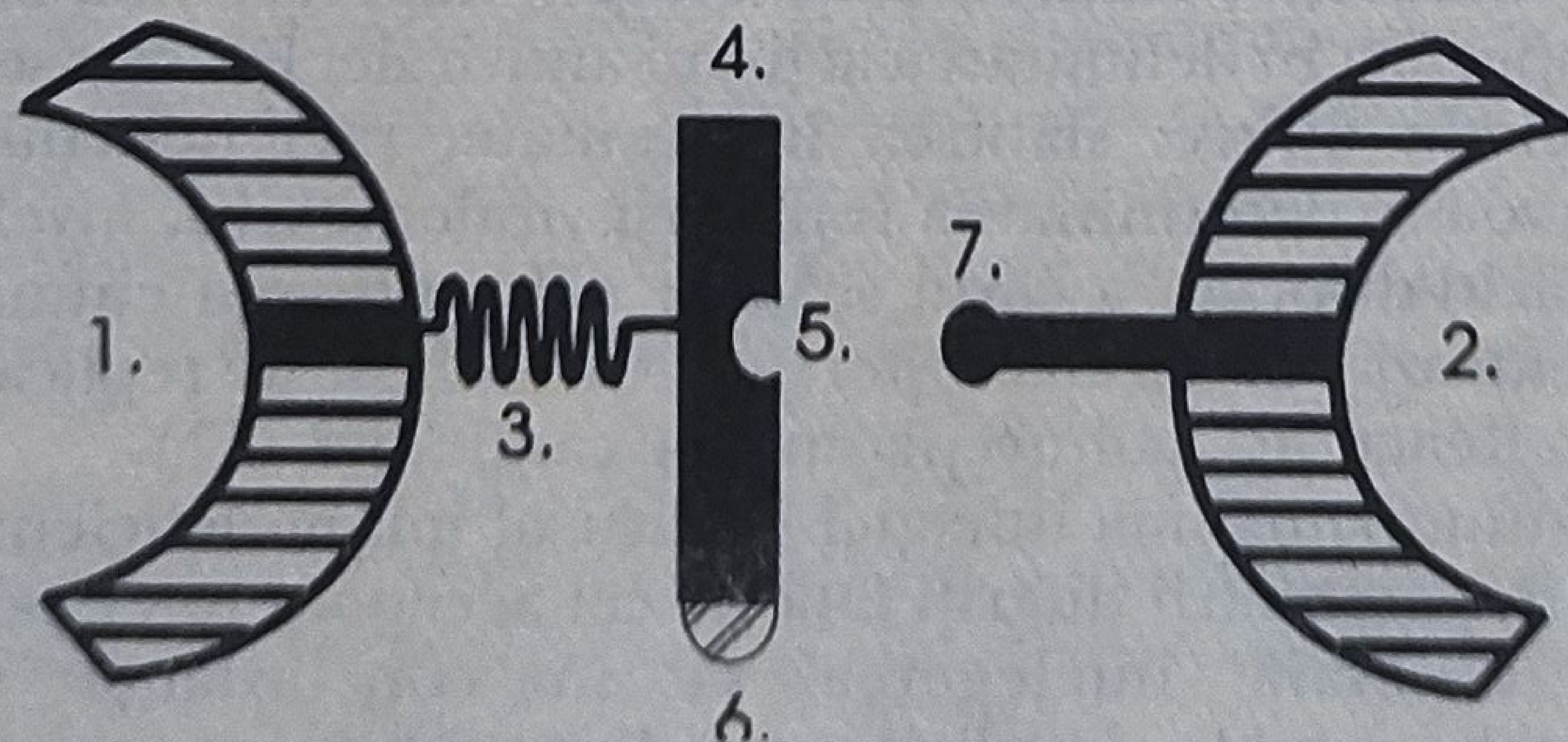


Fig. 78. Recepția infecției cu HIV.

1. – Virus 2. – Celula. gazdă 3. – gp41 (32–41 în funcție de mutante) 4. – gp120 5. – Situs de recunoaștere a receptorului CD4 6. – Bucla de fuziune 7. –Receptor CD4.

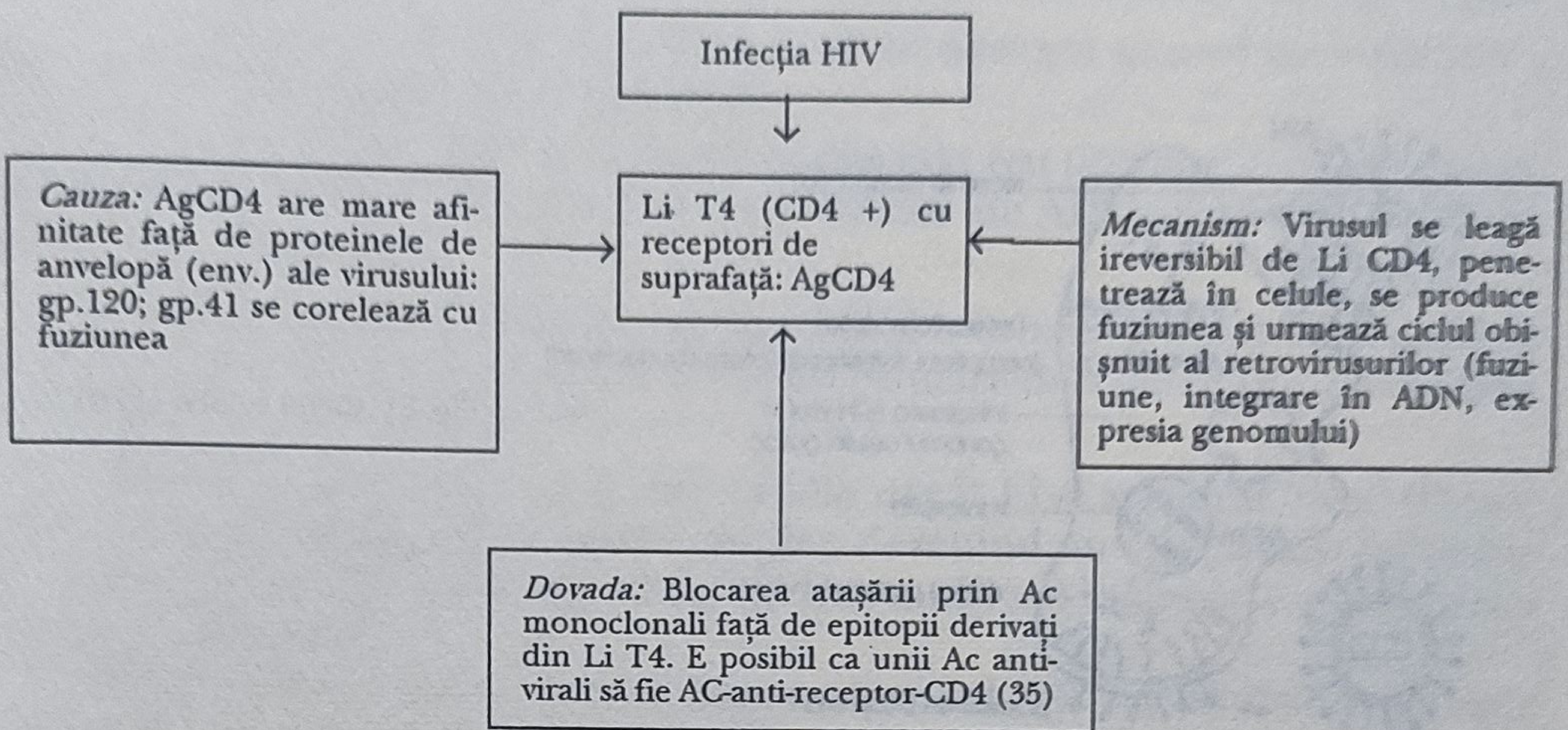


Fig. 79. Afectarea celulelor țintă.

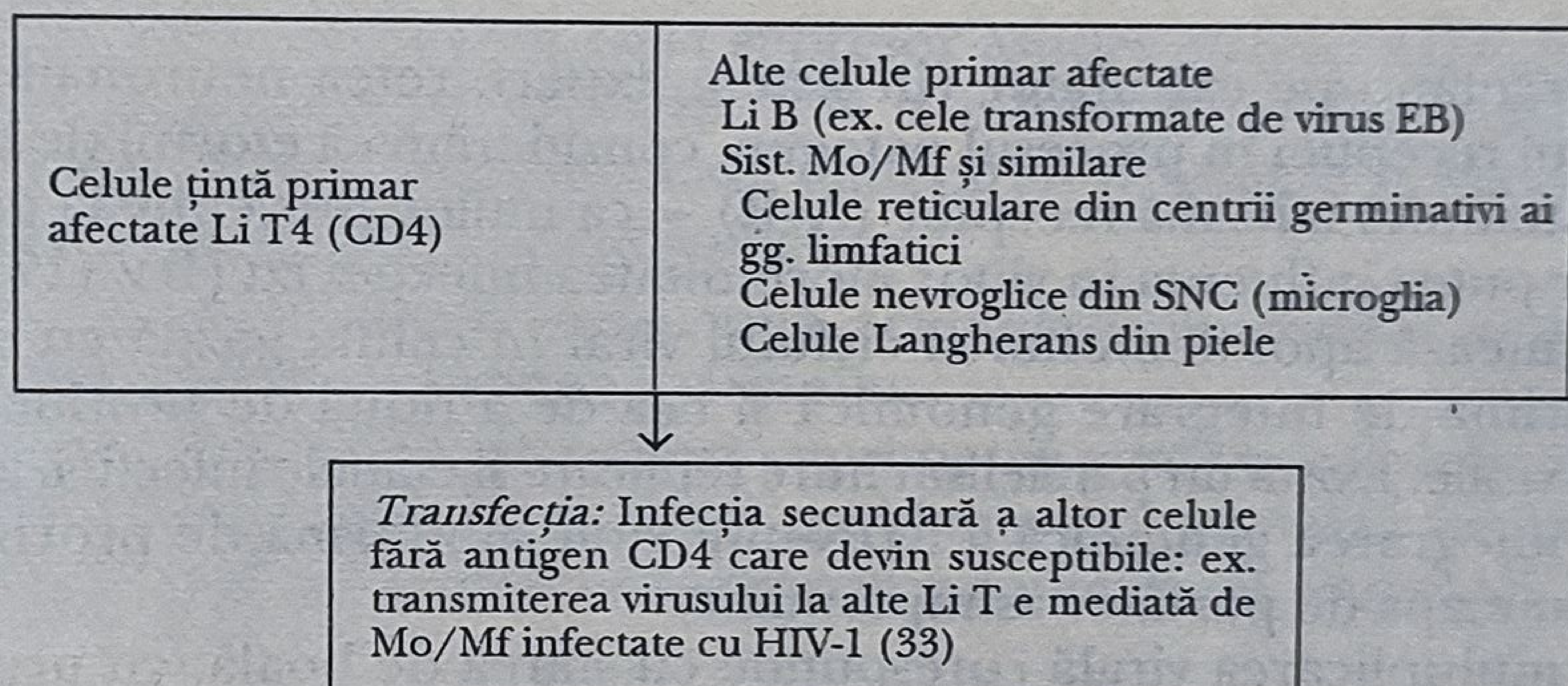


Fig. 80. Infecția primară și secundară.

genere la retrovirusuri). Blocarea recepției (in vitro) e posibilă prin anticorpi anti-CD4, anticorpi anti-gp 120 sau prin legarea zonei CD4 cu fragmente Fc de imunoglobuline umane (imunoadezine CD4).

Infecția CD4 – independentă (transfecția) e posibilă (fig. 80).

Pe linia fagocitelor mononucleare (sistemul Mo/Mf), prezența moleculelor Fc pe suprafața celulelor crește de 2–3 ori eficiența legăturii CD4–mediate, accentuând în genere consecințele celulare ale infecției cu HIV.

Recent s-a mai evidențiat o componentă de adeziune de suprafață: factorul leucocitar de aderare (LFA-1), care cooperează la fuzionare, la diseminarea virusului în Li și în sistemul Mo/Mf, și la efectul citopatic. Anticorpii neutralizanți anti LFA-1 protejează celulele țintă CD4+ față de adsorbție, față de formarea de sinciții și implicit față de replicarea virală. Dacă mononuclearele periferice sunt genetic deficitare în LFA-1, formarea de sinciții este absentă iar transmiterea și replicarea virusului redusă (44).

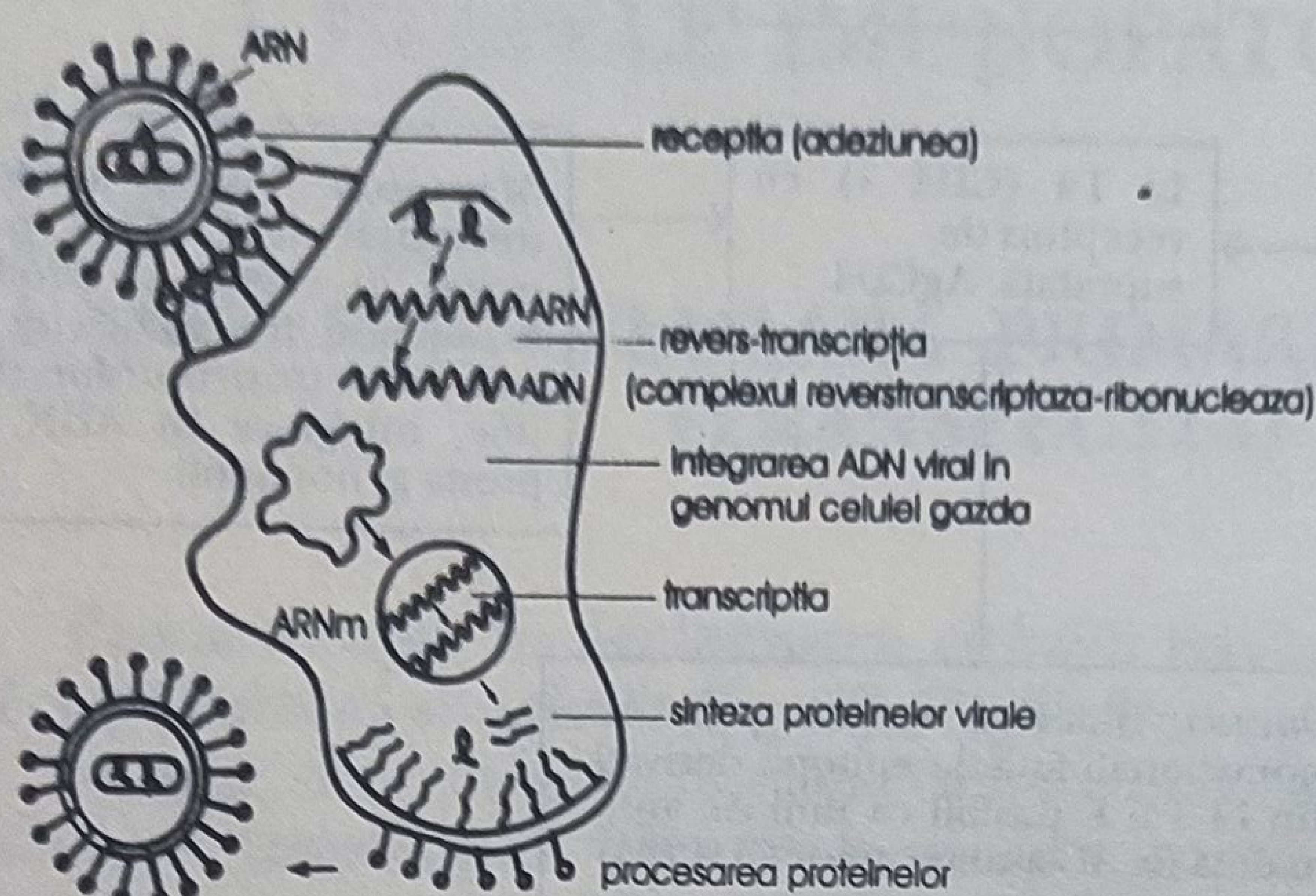


Fig. 81. Ciclul celular al HIV.

Cercetând pe calculator (în sistem expert, rețea neuronală și limbaj C++) rolul recepției în procesul patogen, considerăm că efortul de blocare *in vivo* a sistemului adezină-receptor (A–R) – ca mijloc preventiv la grupele cu risc –, ar putea influența în viitor morbiditatea infecției cu HIV (17).

Urmează apoi dezvoltarea ciclului viral în celula gazdă cu cele două etape: prima de integrare genomică și cea de a doua de producție a particulelor virale. Există un paralelism între replicare și etapele infecției, astfel (49):

– integrarea genomică a ADN-ului viral sub formă de provirus corespunde cu etapa de purtător asimptomatic;

– multiplicarea virală corespunde cu starea de boală, cu următoarele alternative:

● integrarea prelungită fără stimul antigenic corespunde statusului de seronegativitate; copia de ADN se multiplică paralel cu genele celulei gazdă, iar prezența virală este identificabilă prin Polymerase Chain Reaction (PCR).

● după primoinfecția cu viremie și antigenemie p24 (cu seropozitivitate), e posibilă debarasarea aparentă de virus, rezultând infecție abortivă cu seronegativitate, dar o mică parte din infectați se vindecă definitiv, la restul reluându-se ciclul integrării virale; unii autori însă neagă alternativa debarasării integrale;

● după primoinfecție sunt posibile două alternative:

a) – replicare „controlată": producția de virus e redusă, efectul citopatic e moderat (cu număr mic de celule distruse); infecția e oligosimptomatică dar cu seropozitivitate;

b) – replicare activă: virusul e produs abundent, liza celulară (în special a Li CD4) e rapidă și intensă, antigenemia p24 detectabilă, iar aptitudinea organismului de a produce anticorpi este dependentă de nivelul limfocitelor.

Există diferențe importante în ceea ce privește gradul de infectare a diferitelor tipuri de celule, astfel (44):

● Limfocitele CD4+ sunt cele mai afectate (cu precădere cele din compartimenul periferic), conținând nivele ridicate de ADN-proviral cu expresie crescută de ARN–HIV.

● Infectarea monocitelor, microgliei și a celulelor dendritice poate fi concomitentă chiar cu lipsa unei replicări celulare decelabile (ca în infecțiile cu lentivirusuri în genere).

● Un număr mare de celule (altele decât Li și sistemul Mo/Mf) pot purta ADN-viral neintegrat sau incomplet, devenind un compartiment major în instalarea infecției cronice, evoluând lent mulți ani înainte de obiectivarea simptomatologiei.

Citokinele intervin în modularea expresiei HIV în celulele infectate, având și în acest domeniu (ca în inflamație, endotoxinemie etc.), un rol bifuncțional:

● IFN α și β exercită un efect supresor asupra ciclului HIV: în mononuclearele periferice acut infectate, IFN α inhibă nivelul de ARN-HIV și sinteza proteică, IFN α și β blochează eliberarea virionilor maturi din limfocitele T și din monocitele cronic infectate.

● TNF α și β activează transcripția, acumularea mesajelor virale, translația proteică și rata de asamblare a virionilor.

● IL 1, 2, 3, 6, și CSF stimulează exprimarea virală în celulele infectate. Se ridică și aici (ca în endotoxinemie) problema antagonizării farmacodinamice (reglării) citokinelor care influențează și controlează replicarea HIV.

1.2. EFECTELE MORFOLOGICE ALE HIV ASUPRA CELULELOR INFECTATE

Ele sunt de ordin morfologic (distrugere și eliminare) și funcțional (perturbarea funcției celulelor restante). Aceste acțiuni explică eliminarea parțială a unor subseturi preferențiale (tabelul 10).

Unele interpretări ale datelor din tabelul 10 sunt necesare:

● Efectul citopatic direct se produce prin acumulare exagerată în celule de ADN nonintegrat, dar mai ales prin inhibiția (subordonarea) biosintezei proteice celulare.

Tabelul 10

Alterările morfologice directe și indirecte

Directe (prin efect citopatic)	● Efect citopatic asupra Li CD4 cu liza celulară a acestora. ● Transformarea unor celule infectate în sinciții cu celule gigante. ● Eliminarea celulelor lizate prin SRE.
Indirecte (prin mecanisme imunopatologice)	● Eliminarea Li CD4+ prin Li T citotoxice activate față de celulele infectate și chiar neinfectate (59). ● Distrugerea celulelor din centrii germinativi ai gg. limfatici prin Li T8 (citotoxice); celulele reticular-dendritice ale foliculilor germinativi nedistruse devin sediu al Ag virale de suprafață complexate cu Ig. ● Distrugerea autoimună prin autoanticorpii anti-T4. ● Distrugerea prin alte Li T specific activate a Li încărcate cu virus (ca în HVB). ● Trombocitopenia autoimună (marker important diagnostic și prognostic).

● Sincițiile se formează prin fuzionarea membranei celulelor infectate cu membranele CD4 neinfectate, rezultând celule gigante multinucleate. Formarea lor este mediată de factorul leucocitar de adeziune (LFA-1' sau lymphocyte-fusion-associated antigen 1) produs de Li CD4 infectate cu HIV.

● Răspunsul imun specific (T și B dependent) față de HIV, prezintă (la fel ca în hepatita virală B), cele două efecte antagoniste:

– acțiune favorabilă: efect neutralizant, de potențare a citotoxității celulare anticorpic dependente, care se manifestă protector prin acțiunea exercitată asupra unor structuri ale anvelopei HIV;

– acțiune nefavorabilă, manifestată mai ales în etapa de cronicizare a infecției, deoarece duce la eliminarea celulelor infectate (Li CD4, celule dendritice, macrofage), fapt care amplifică deficitul imun.

● În ultimul timp este tot mai acreditată ideea după care depleția Li CD4 poate fi și independentă de acțiunea virusului (41 a) după cum rezultă și din partea a doua a tabelului. Există și alte posibilități, astfel:

– Mecanismul autoimun poate fi produs și prin cross-reacția dintre anticorpii față de gp120 și gp41 și antigene de histocompatibilitate (HLA-DR, HLA-DQ), ca urmare a asemănărilor de structură. Acești anticorpi au fost depistați la bolnavi; ei pot bloca interacțiunea între CD4 și HLA din clasa II, ceea ce alterează funcțiile antigen-specifice ale Li CD4 (ca într-o reacție imună allogenică).

– Un „superantigen” (diferit de HIV) de origine microbiană sau virală se poate lega de regiunea lanțului β al receptorilor limfocitelor T; rezultatul se materializează fie prin stare anergică fie chiar prin depleția subgrupului respectiv ca urmare a creșterii vulnerabilității acestuia.

– Li CD4 care, prezintă alterări cantitative sau calitative sunt supuse așa zisei „morți celulare programate” (apoptosis). Se presupune că pregătirea pentru apoptosis e făcută de legarea cu superantigene sau legarea CD4 cu gp 120 (sau cu complexe imune gp 120-anti-gp120).

● Trombocitemia se produce prin mai multe mecanisme: afectarea directă a megacariocitelor de către virus, autoanticorpi față de antigene țintă plachetare, la care se adaugă uneori acțiunea trombocitolitică a unor medicamente (pentamidina, cotrimoxazolul), sau a infecției asociate (endotoxinemie cu coagulare intravasculară diseminată).

1.3. TULBURĂRILE FUNCȚIONALE ALE CELULELOR RESTANTE

Se produc atât în stadiile precoce cât și în cele avansate ale infecției cu HIV (sau chiar cu provirus latent), chiar dacă virusul și provirusul se evidențiază (exprimă) pe puține celule CD4 (posibil și datorită imperfecțiunilor tehnice actuale).

Modificările funcționale interesează (31, 43):
– Li T4 restante
– Li T8 (CD8 supresor/citotoxic)
– Sistemul Mo/Mf (monocit/macrofag)
– Li B
– Li NK
– Li Null

Determinarea subseturilor limfocitelor T (CD4+ precum și raportul CD4+/CD8+) reprezintă un factor important în monitorizarea bolnavilor cu infecție cu HIV, dar în interpretare trebuie să se țină cont de variațiile în funcție de vârstă și de etnie (caucaziană, afro-americană, hispanică), devenind necesară ajustarea (existând tabele de corecție) în funcție de aceste circumstanțe (57). Valorile interpretative indicate de CDC/HIV–AIDS (Centers for Disease Control) sunt: CD4+ $< 200/mm^3$, CD4% < 14)

Tabelul 11

Alterările funcţionale ale celulelor restante şi consecinţele acestora

T4 restante	● pierderea efectului „helper" pentru producerea de Ig în sisteme cu mitogeni şi cu Li B, T-dependente, ● răspuns proliferativ defectiv (prin defect de recunoaştere sau prin anormalitate de prezentare a Ag), ● alterarea intercomunicărilor celulare (la mitogeni), prin perturbarea mediatorilor pentru T4: scade cooperarea cu Mf prin alterarea IL2 (factor major de susceptibilitate la patogenii intracelulari şi la anergia cutanată), ● alterarea răspunsului Li T la seruri anti AIDS (chiar când Li T sunt în limite normale), ● citire greşită a răspunsului genetic, cu apariţia de molecule virale aberante (produse retrovirale cu proprietăţi imunodepresoare);
T8 (CD8) supersor/ citotoxic	● creştere în stadiile precoce ca răspuns la virusurile oportuniste cu scădere în stadiile tardive, ● funcţia supresoare e parţial păstrată, cea citotoxică e moderat scăzută (prin deficit de IFN şi IL2) sau refractară (prin deficit în T4 sau Mf);
Sistemul Mo/Mf	● devine sediu de persistenţă al Ag viral în ţesuturi (în sângele periferic, plămân, creier, gg. limfatici, celule tegumentare Langherans), nu cu efect citopatic dar ca rezervor de HIV-1, ● scade funcţia monocitară (chimiotaxia, fagocitoza Fc – dependentă), răspunsul la mitogeni şi antigene (corelabilă cu scăderea exprimării Ag HIV-DR pe monocite – ca în celulele Langherans din piele şi în celulele dendritice din sânge) (echivalente), ● scade apărarea faţă de patogenii intracelulari (prin scăderea IL1), ● scade rolul de transport al gazelor în plămâni, a transferurilor în intestin cu atrofie vilozitară etc.;
Li B	● exprimă Ag (markeri de suprafaţă) profund diferiţi de Li B normale (la unele lipsesc total); în funcţie de ţesut se perturbă proporţia de Ig produse la stimulări (51), ● activare policlonală (prin efect indirect al HIV şi prin scăderea funcţiei reglatoare a T4 asupra Li B), ducând la hipergamaglobulinemie policlonală (ca în LED) şi la riscul limfoamelor B, ● la nr. normal de Li B producţia spontană de Ig e crescută, dar Li B sunt refractare la producţia de Ig în urma stimulării specifice cu neoantigene sau la mitogeni, deci nu antagonizează infecţiile actuale, ● cresc IgA, IgG (şi IgM la copii), dar scad IgG2 care răspund de eliminarea bacteriilor incapsulate *(Haemophylus influenzae*, Pneumococ), ● cauza principală a activării policlonale e legată şi de creşterea IL 6 plasmatice (8);

Li NK	● cantitativ se întâlnesc situații variabile; de pildă NK1 (Leu 7) sunt normale sau crescute, Leu 11 sunt normale sau scăzute, ● deficitul funcțional e însă constant cu alterarea funcției antitoxice, scăderea atașării pe celule țintă, ● mecanismul: scăderea controlului mediat prin IFN–α și γ, IL2 și creșterea IFN – acidolabil – produs patologic – și indirect prin afectarea Li T4 și Mf, ● există însă o subpopulație (radiorezistentă) de NK ce își păstrează activitatea chiar când tulburările Li T și B sunt profunde (42);
Li Null	Null-cells, cu receptori Fc, Leu 7 pozitive, răspund de citotoxicitatea T-mediată anticorpic-dependentă (CTAD) față de celulele infectate cu HIV (5), ● ținta CATD e reprezentată – probabil – de determinanți glicoproteici din porțiunea transmembranară a anvelopei, ● e dificil de stabilit rolul CATD în infecția cu HIV dar se știe că în genere acest tip de citotoxicitate joacă rol în ieșirea din infecțiile virale.

1.4. STAREA DISIMUNĂ

Această denumire (echivalentă cu dezordine imunologică) este perfect justificată, deoarece se asociază la nivel variabil atât mecanisme imunodepresoare cât și imunohiperactive (43, 52).

Mulți autori consideră că imunologia infecției cu HIV (și în consecință epidemiologia și clinica) reprezintă, așa cum se prezintă, o secțiune a momentului bioecologic actual, fiind posibile schimbări și conjuncturi imprevizibile în viitor.

Astăzi HIV se propagă prin 4 mecanisme esențiale (raportul sexual traumatizant, transmitere verticală de la mamă la făt, siringi nesterile și produse sanguine infectate de exemplu prin factorul VIII la hemofilici). Acestea influențează în mare măsură factura disimună (și clinico-evolutivă). Recent însă, prin punerea în contact a HIV cu virusul leucemiei murine în culturi celulare, s-au obținut mutante care se replică mai rapid și care au un spectru de acțiune pe un număr mai mare de celule umane. După cum se exprimă chiar Robert Gallo, e posibil ca asemenea mutante să apară și în afara laboratorului (în natură) sau în organismul uman; deja au apărut variante animale care au propagare aeriană, de unde întrebarea: ce va fi când AIDS se va transmite ca gripa și în ce fel va afecta imunitatea?

Foarte actuală este și problema implicațiilor imunopatogenice (și de investigație) ridicate de transmiterea materno-fetală și seminală a HIV. Leuco-

citele seminale (și lichidul seminal) sunt apte de a transmite virusul. Spermatozoizii infectați pot fi vectori ai HIV, deși nu e încă foarte clar dacă spermatozoizii umani au receptori CD4+. Problema se focalizează deci pe transmiterea materno-infantilă (37).

În legătură cu substratul stării disimune în infecția cu HIV, au intrat în circulație două noțiuni și anume: **Coinfecția** sinergică, înțelegând prin aceasta infecțiile concomitente care favorizează exprimarea HIV, fie în etapa de producere a ARN-ului m, fie în cea de sinteză a proteinelor virale. Asemenea agenți infecțioși sunt: virusul citomegalic, herpetic 1, HTLV-1 (human T-cell lymphotropic virus type 1), posibil și Mycoplasma (41 a) și **Copatogenitatea** (copatogenia), ceea ce definește asociațiile morbide a căror apariție (coexistență) e favorizată (și chiar indusă) de tulburările imunologice comune, care se însumează sau se potențează reciproc. Fondul imunopatogen reciproc potențator poate fi de ordin imunogenetic sau ținând de contextul disimun, compatibil cu asocierea. Entitățile cele mai invocate în acest sens sunt: sindromul Reiter, sindromul Syögren, artrita HIV-asociată, miopatia, sindromul lupic (lupus – like syndrome), vasculita sistemică. În aceste situații, întrepătrunderea imunopatogenă este atât de intimă încât devine dificil de a face diferențieri cauzale. Relația dintre oncogeneză și alterările imunității celulare sunt bine cunoscute. Relația cu amiloidoza nu e clară, dar s-a constatat că în ARC și AIDS există un nivel crescut al amiloidului seric A, iar angiopatia cerebrală amiloidă a fost identificată în infecția cu HIV.

Una din cele mai importante asocieri copatogene este cea dintre infecția cu HIV și malnutriție, unde influența reciprocă defavorabilă este constantă și progresivă (fig. 82) (25a).

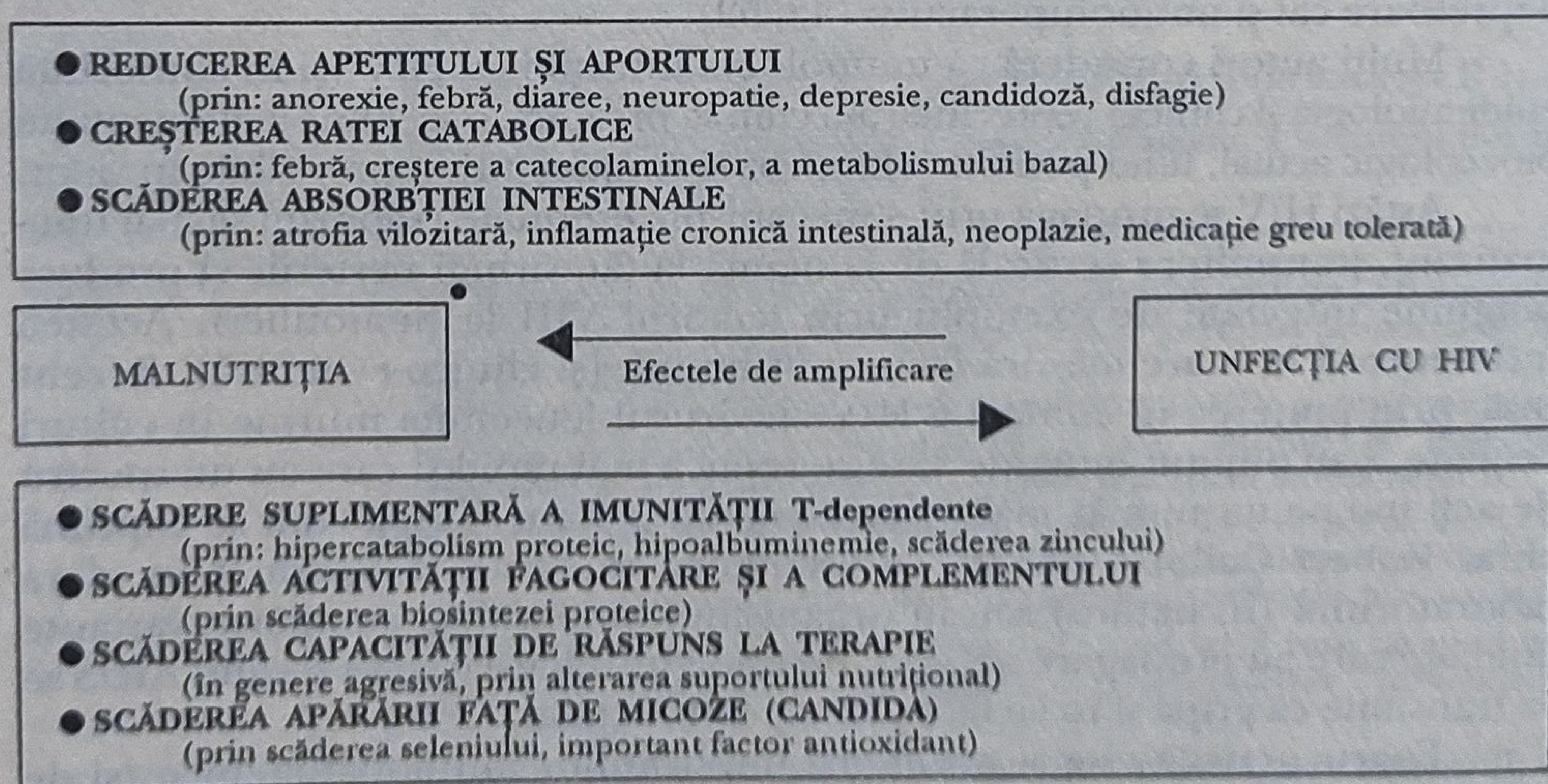


Fig. 82. Acțiuni copatogene în asociația malnutriție – HIV.

Tabelul 12

Cauzele răspunsului hipoimun primar

Factor imunogenetic	● Asocierea S. Kaposi cu HLA. DR.5, ● Asocierea HLA. DR5 cu hiperlimfocitoza CD8 și sindrom parotidopulmonar (tumefiere parotidiană ce seamănă cu S. Sjögren și pneumonită interstițială limfocitară cu infiltrații difuze în glandele salivare și plămân, ajungând la limfadenopatie cu insuficiență respiratorie) (sindrom SICCA) (27), ● Asocierea Ag cross-reactant HLA.B5 în infecția cu HIV cu Li puternic reactogene cu Ac monoclonali 4D12 și cu receptori pentru IL2 (ce recunosc Ac monoclonali), ● Asocierea fenotipului HLA. DR2 cu exprimarea antigenului p24 la pacienții HIV+ (19).
Imunodepresia primară	● Deficitul T-dependent e factorul major, prin depleția T4 (CD4) și alterările funcționale ale Li T restante, ● Deficitul funcțional B-dependent: reducerea IgG2 (în ciuda creșterii policlonale) induce susceptibilitatea crescută la infecții cu tulpini microbiene neîntâlnite anterior, mai ales în ARC și AIDS, ● Deficitul IgA în salivă: HIV a fost cultivat din saliva bolnavilor cu AIDS care prezentau o diminuare a IgA-anti HIV (deși transmiterea prin salivă nu a fost dovedită) (60).

Tabelul 13

Cauzele răspunsului hipoimun secundar

Endogene	● Componente ale serului uman care întăresc acțiunea virusului și care inhibă activitatea anticorpilor neutralizanți. S-au identificat 2 factori: – fact. termostabil (la sero+) – care e un Ac față de gp. de suprafață a HIV (neutralizant), – fact. termolabil (ubicvitar), absent în serurile cu deficit de C3, dar prezent în cele cu deficit de C1q. Combinarea celor 2 factori crește infectivitatea virusului și acțiunea imunodepresoare (48).
Exogene	● Oportuniștii de suprainfecție (mai ales VCM și Micobacterii); (de aici rezultă și efortul de a găsi medicație antivirală adresată acestei etape – dehidroxi-propoxi-metilguanina).

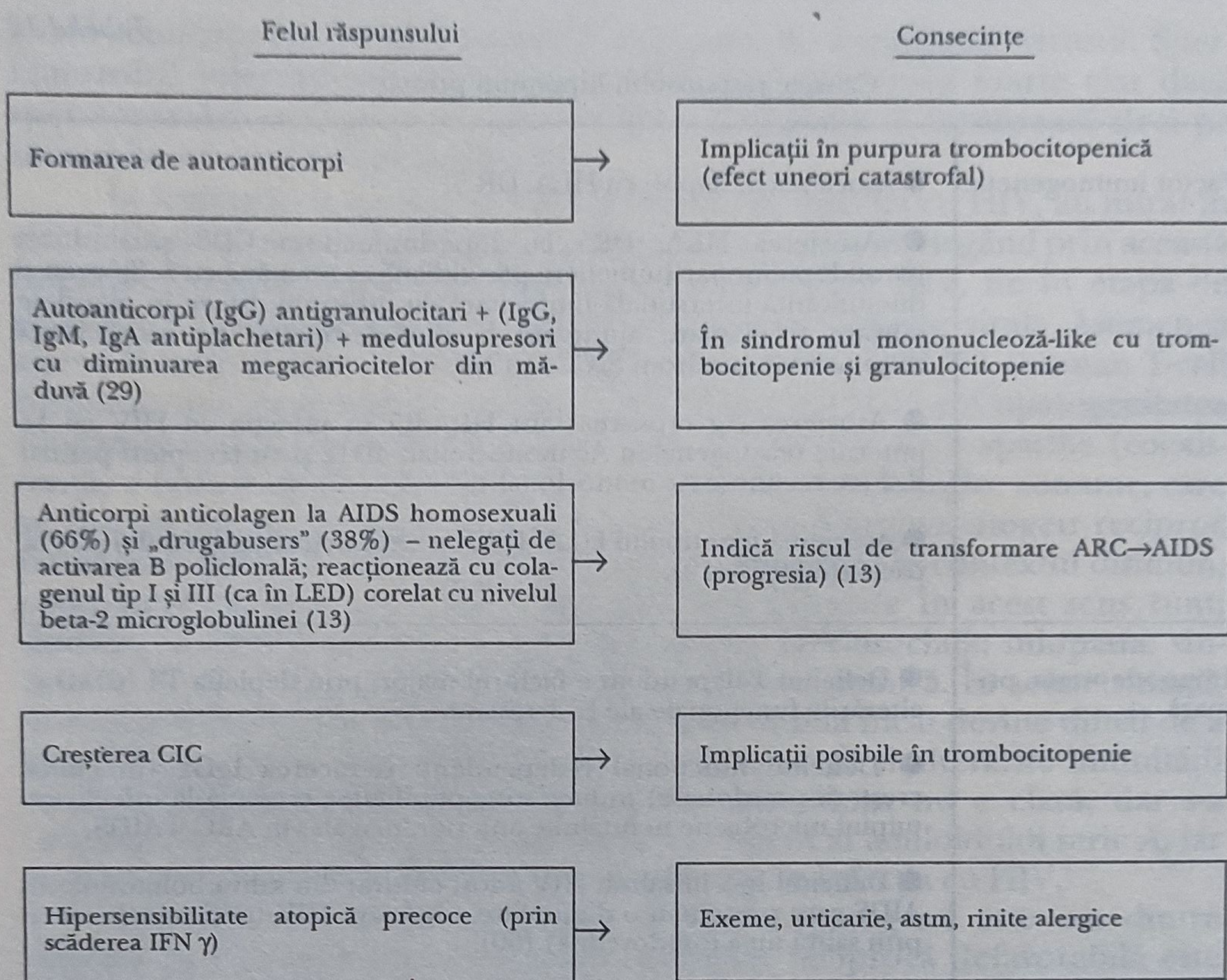


Fig. 83. Imunohiperactivitatea în AIDS.

1.5. CONSECINŢA ESENŢIALĂ A STĂRII IMUNODEFICITARE

În infecţia cu HIV se produce invazia cu germenii oportunişti, ca urmare a alterării cooperării între Li T4–Mf–NK.

În stadiile precoce răspunsul imunologic e parţial păstrat şi tratamentul infecţiilor oportuniste e încă posibil; în stadiile tardive imunodepresia e profundă, riscul diseminării cu oportunişti e mare (mai ales cu VCM) iar tratamentul e slab eficace (4).

2. IMPLICAȚII CLINICO-EVOLUTIVE

2.1. IMUNODIAGNOSTICUL INFECȚIEI CU HIV

A. **Principii generale** (7, 9, 10, 24).

● *Valoarea probelor*

● Testele imunopatologice prezintă o valoare redusă ca markeri diagnostici (evidențiază bulversarea imunitară dar nu pun diagnostic, ci indică doar probabilitatea, care va fi interpretată în contextul clinicoanamnestic). De pildă cel mai complet tablou:

Limfopenia + < CD4 + Anemie + > Creștere policlonală a Ig

spune doar că bolnavul are aceleași tulburări imunitare cu cele din AIDS.

● În HIV asimptomatic subseturile T au valoare limitată fără evaluare longitudinală iar în stadii precoce T4 sunt deseori normale (cantitativ),

● Combinații diverse de teste patologice întâlnite în infecția cu HIV pot fi întâlnite și în alte entități clinice.

● *Semnificația*

● Testele imunopatologice și cele diagnostice formează două zone tangente dar nu suprapuse (fig. 84).

● *Perioada de eclipsă* se constată în primele 6–8 săptămâni (→ 6 luni), de la infecție până la pozitivarea imunodiagnosticului (similar și experimental la cimpanzei infectați cu plasmă sau sânge de la pacienți cu HIV), când:

– testele serologice nu s-au pozitivat încă,

– testele de identificare a Ag viral prezintă valoare, dacă acesta nu e mascat în CIC,

– e posibilă apariția precoce a Ac IgM și Ig A de tip (21);

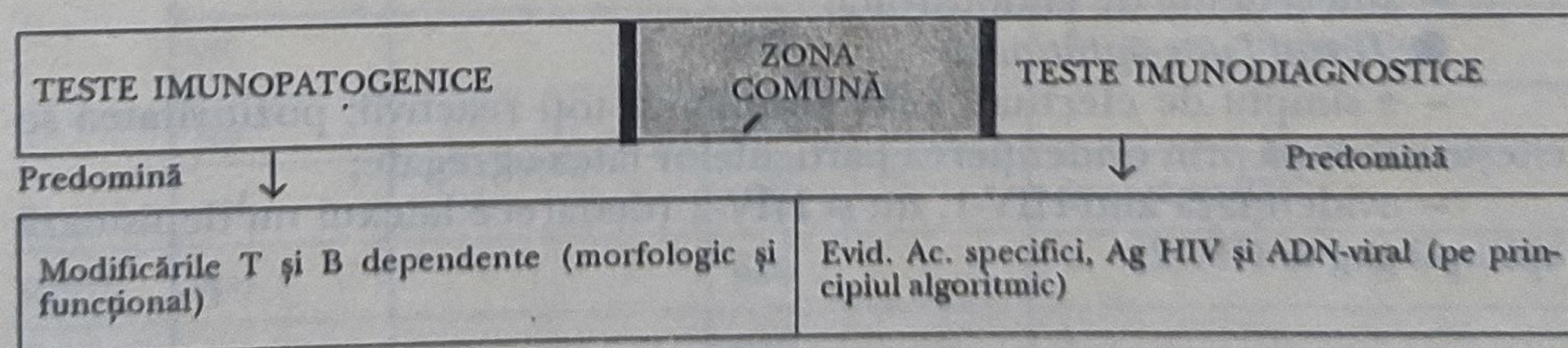


Fig. 84. Disocierea testelor imunopatogene de cele imunodiagnostice.

● determinarea prin screening epidemiologic a perioadei de incubație (54) în studii populaționale prin cuantificarea criteriilor, are o eficiență de 50% (depinzând de nivelul respectării factorilor profilactici).

● există perspectiva diagnosticului precoce prin detectarea ADN-HIV („Polimerase Chain Reaction").

B. **Identificarea Ac specifici** (21, 22, 43):

a) **Metodele primei etape**

● *Imunofluorescența indirectă* (anticorpii fixați pe substrat celular sunt evidențiați cu o antiglobulină umană marcată cu izotiocianat de fluoresceină), detectează bine anticorpii față de glicoproteinele membranare și transmembranare dar e dificil de standardizat și pretează la interpretări eronate (49).

● *Teste de tip ELISA:* sunt foarte eficace și cu utilizare largă decelând cantități mici de Ac. Diferitele proceduri comercializate (pentru HIV-1, -2) au ca principiu general o reacție imunitară cu apariția unui produs colorat care e citit și măsurat spectrofotometric.

Cauzele de eșec (eroare) sunt următoarele:
- disparația progresivă a Ac;
- prezența posibilă a Ac materni la nou-născut;
- perioada de eclipsă;
- titru mai scăzut la copii;
- contaminarea cu molecule de anticorpi față de aloantigene HLA (cls I sau II) (la kituri tip A) derivate din liniile celulare de multiplicare a virusului; apar și la femei multipare, politransfuzați, la persoane cu boală Hodgkin, infestați cu *Echinococcus granulosus,* după consum de heroină (2).

Eliminarea cauzelor de eroare:
- cercetarea în dinamică (24 luni);
- cercetarea în paralel a 2 teste bazate pe principii diferite (în esență ELISA confirmată prin Western-Blot).

Factorii favorizanți ai indicelui crescut al serpozitivității:
- consumul îndelungat de droguri;
- promiscuitatea sexuală extremă;
- antecedente de endocardită.

● *Testul latex-aglutinării**
- e simplu de efectuat, kitul conținând toți reactivii; pozitivitatea se citește sub lupă prin evidențierea particulelor latex-agregate;
- evidențiază anti-HIV-1, nu și HIV-2 (deoarece latexul nu depistează epitopii gag ai HIV-2).

---

*Quinn T.C., Riggin C.H., Kline R.L. – JAMA, 1988, 260/4, 510–513.

Tehnicile de aglutinare nu sunt agreate în Europa.

b) **Dinamică și interpretare**

– La efectuarea a 2 teste (bazate pe principii diferite) apar trei alternative:

Tabelul 14

Rezultat ELISA	Interpretare
2 teste negative – –	Serul nu conține Ac decelabili
2 teste discordante + –, – +	Se repetă investigația
2 teste pozitive + +	Serul conține Ac decelabili

– Toate serurile (cu excepția celor – –) se trec la metoda Western-Blot, principala tehnică de confirmare, care diferențiază Ig direcționate față de gene produse de HIV (gag: p55, p24, p28, p13; pol: p51, p65; env: gp160, gp120, gp41). Deci pentru interpretarea WB trebuiesc cunoscute proteinele codate de genele virale.

Tabelul 15

Funcțiile și produsele genelor virale

Virus	Genă	Proteine codate – Precursor	Proteine codate – Matur	Codare, funcții
HIV-1 și HIV-2	gag	p53–55, p40, p15	p17, 24, 9, 6	proteine core
	pol	p160–180 ?	p10	proteaze
			p51, 64	reverstranscriptaza
			p34	endonuclează-integrază
	env	gp160	gp120, gp41	proteine de anvelopă
	tat		p14–15	reglare pozitivă
	rev		p20	reglare diferențială
	vif		p23	factor de infectivitate
	vpr		p18	?
	nef		p27	latență virală?
HIV-1	vpu		p16	?
HIV-2	vpx		p16	?

Tehnicile de aglutinare nu sunt agreate în Europa.

b) **Dinamică și interpretare**

– La efectuarea a 2 teste (bazate pe principii diferite) apar trei alternative:

Tabelul 14

Rezultat ELISA	Interpretare
2 teste negative – –	Serul nu conține Ac decelabili
2 teste discordante + –, – +	Se repetă investigația
2 teste pozitive + +	Serul conține Ac decelabili

– Toate serurile (cu excepția celor – –) se trec la metoda Western-Blot, principala tehnică de confirmare, care diferențiază Ig direcționate față de gene produse de HIV (gag: p55, p24, p28, p13; pol: p51, p65; env: gp160, gp120, gp41). Deci pentru interpretarea WB trebuiesc cunoscute proteinele codate de genele virale.

Tabelul 15

Funcțiile și produsele genelor virale

Virus	Genă	Proteine Precursor	codate Matur	Codare, funcții
	gag	p53–55, p40, p15	p17, 24, 9, 6	proteine core
	pol	p160–180 ?	p10	proteaze
			p51, 64	reverstranscriptaza
HIV-1			p34	endonuclează-integrază
și	env	gp160	gp120, gp41	proteine de anvelopă
HIV-2	tat		p14–15	reglare pozitivă
	rev		p20	reglare diferențială
	vif		p23	factor de infectivitate
	vpr		p18	?
	nef		p27	latență virală?
HIV-1	vpu		p16	?
HIV-2	vpx		p16	?

Serul e pus în contact cu proteinele virale separate în funcție de masa moleculară. Când Ac recunosc o proteină virală se produce un spot colorat la locul unde se află peptidul. În final apare o imagine cu serii de benzi colorate în funcție de MM (amprenta virală), separat pentru HIV-1 și HIV-2. În majoritatea cazurilor seropozitivitatea e definită de prezența a cel puțin 2 Ig (de pildă anti- p24 și anti gp41), dar uneori nu sunt concordante în timp –anti-p24 apare înaintea p24 (1). Pe de altă parte, s-au semnalat rezultate fals-pozitive (la donatori de sânge neinfectați), ceea ce crează dificultăți de interpretare (12).

În principiu p24, p34 și p53/64 sunt recunoscute de HIV-1 și 2 iar gp41 și gp 120 cu precădere de HIV-1. În alternativa în care se acceptă diagnosticul prin cel puțin 2 benzi specifice, una trebuie să fie neapărat o gp de anvelopă (gp41 sau gp 120/110/160 pentru HIV-1 și gp130/140 pentru HIV-2).

Tabelul 16

Interpretarea tehnicii Western-Blot

Rezultat	Semnificație	Atitudine
Recunoaștere integrală	Seropozitivitate certă	Infecție HIV
Nerecunoaștere minimal admisă	Seronegativitate	Se trece la etapa III[a] algoritmică (identificarea virusului)
Recunoaștere parțială (~ 15%)	Serologie ±	Corelare cu anamneza, simptomatologia, stadiul evolutiv. Se verifică recoltarea și conservarea corectă a serului, excesul de azidă. Repetare peste o lună. Apoi se trece la etapa a III-a algoritmică (identificarea virusului).

Ambele teste: metoda imunoenzimatică (ELISA) și HIV-imunoblot-ul au fost treptat ameliorate (tabelul 17) (46 a):

● Testul de radioimunoprecipitare pune în evidență preferențial anticorpii față de proteinele de anvelopă și poate aduce un plus de informație probelor cu interpretare delicată la WB, dar e greu abordabil în investigația curentă.

C. **Identificarea virusului** implică tehnici costisitoare, laborioase și exigente metodologic.

● Sângele e prelevat pe anticoagulant; urmează apoi separarea mononuclearelor, care sunt amestecate cu Li de la subiect seronegativ și stimulate cu fitohemaglutinină (FHA); cultura e menținută în prezența IL2. Prezența

Tabelul 17

Perfecționarea metodelor ELISA și WB

Testul	Aspecte tehnice, ingrediente	Sensibilitate
ELISA generația 1	Utiliza preparate de Ag HIV purificat (implicând condiții de securitate și calificare pentru cultivarea virusului)	Reacții fals + posibile la politransfuzați consumatori de droguri: răspunsuri deviate față de antigene celulare
ELISA generația a 2	Folosește Ag HIV recombinante, elaborate în E. Coli și purificate, sau peptide sintetice cu mare specificitate	Reacții fals + posibile la bolnavii cu colagenoze, boli autoimune și chiar infecții acute
ELISA generația a 3	Folosește proteine obținute recombinant (HIV-1 env, HIV-1 gag, HIV-2 env)	Cuprinde Ac (IgG și IgM) atât față de HIV-1 cât și 2; Sensibilitate și acuratețã superioară
WB generația 1	Utilizează HIV concentrat și purificat obținut pe culturi celulare. Separarea componentelor virale se obține prin detergenți, ultrasunete, electroforeză în gel-poliacrilamidă, cu trecere pe matrice de nitroceluloză. Fâșiile obținute (după saturarea legăturilor libere) sunt incubate cu ser diluat și globulină antiumană cuplată cu peroxidază. Ac specifici se evidențiază cu diamino-benzidină, care în combinație cu peroxidul determină o reacție de culoare brună la locul formării complexelor Ag-Ac	Reacții fals + posibile
WB generația a 2	Folosește antigene recombinante obținute în sisteme bacteriene sau culturi celulare	Specificitate crescută, sensibilitate mare; rată mică de reacții fals +

virusului e certificată prin măsurarea activității reverstranscriptazei sau prin evidențierea Ag viral. Cultura pe Li permite izolarea în 70–80% din cazuri și e importantă pentru stabilirea susceptibilității la tratamente.

● Cercetarea Ag HIV din serul pacienților se face pe kituri sensibile specifice. Există riscul reacțiilor incerte (fals +), dar colaborarea cu serodiagnosticul (WB) crește consistent valoarea, ținând cont de dinamică.

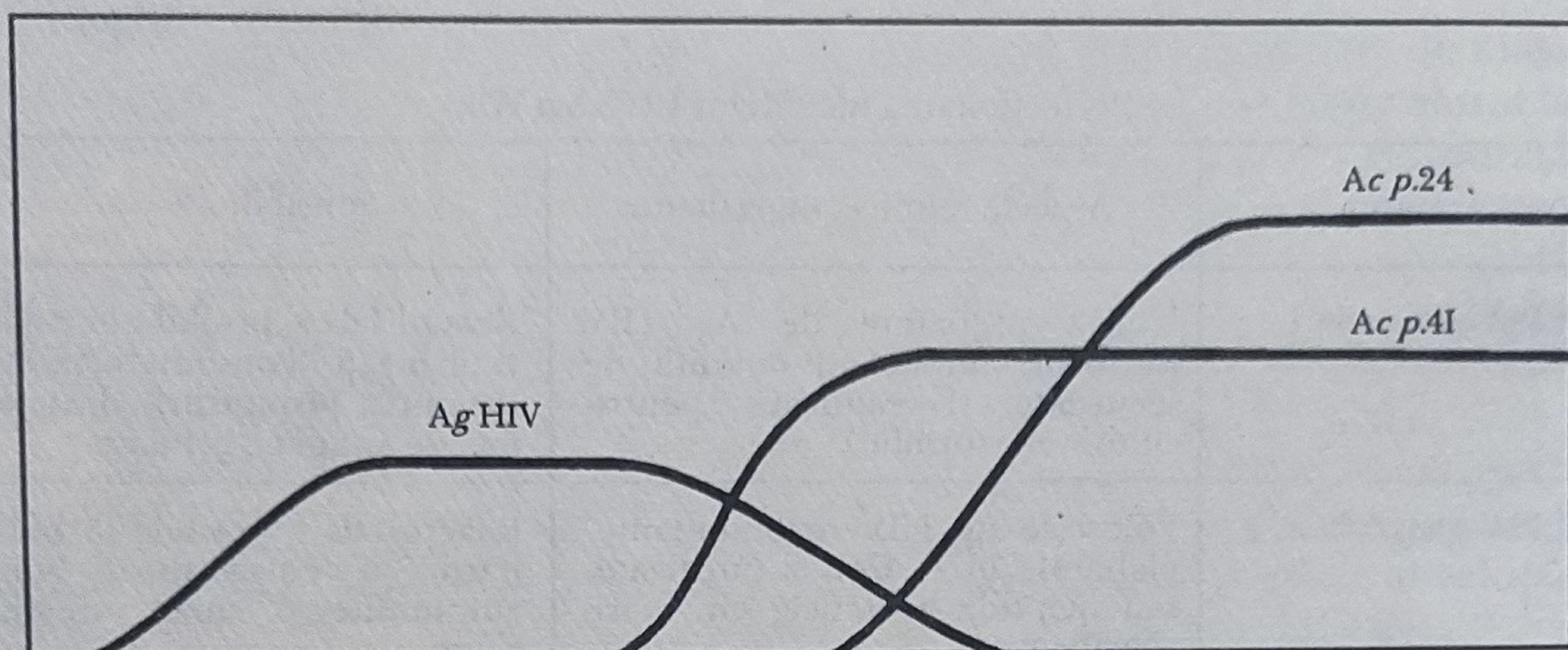


Fig. 85. Relația temporală între antigenemia HIV și anticorpii față de p24 și gp41.

Metoda ELISA-sandwich pentru detectarea antigenului HIV are o sensibilitate redusă, dar e totuși utilă pentru decelarea infecției chiar înainte de seroconversie sau la copii născuți din mame seropozitive.

● „Polimerase Chain Reaction" (PCR) evidențiază secvențele de ADN (genom viral), și e în curs de standardizare. Permite de a fi utilă din etapa de provirus ADN-HIV (se decelează în mononuclearele sângelui chiar înaintea seroconversiei), deci satisface necesitatea diagnosticului precoce (26). PCR promite de a rezolva problema sensibilității. Ea pornește de la principiul sintetizării *in vitro* a mai multor copii a unei secvențe scurte de acizi nucleici virali conținuți în prelevat. Reacția de amplificare are loc pornind de la ADN: se caută direct prezența ADN-ului proviral integrat în ADN-ul celular sau prezența ARN-ului genomic sau mesager, provocând o precedare a amplificării unei etape de reverstranscripție care transformă ARN-ul în ADN. Produsul de amplificare e apoi analizat prin electroforeză (colorare cu bromură de etidium) (49).

Unele probleme mai dificile se pun în diagnosticul precoce al infecției la copiii mai mici de 6 luni. În acest sens, Borkowski (6, 7) relatează următoarele:

– PCR și cocultivarea HIV au o sensibilitate egală la sugarii în vârstă de 0–6 luni, detectând 90% din probele pozitive; ambele metode dau rezultate fals negative/fals pozitive în 5% din probele provenite de la copii pe cale de seroconversie; ambele detectează HIV-ul doar la jumătate din noii născuți infectați, ceea ce sugerează că la aceștia infecția s-a produs pe parcursul gestației.

– Antigenul p24 plasmatic s-a depistat la > 70% din probele testate, dar numai la 50% din sugarii infectați în primele 2 luni de viață; la cei în vârstă de 2–6 luni procentul a crescut la 88%.

În genere e cunoscut faptul că la copiii cu AIDS sau ARC există o mai redusă tendință de scădere masivă a Li T4 iar serurile lor recunosc mai puține polipeptide la Western-Blot (34). Particularizările interpretative în funcție de mediu, de contextul imunoclinic și de teren în infecția infantilă cu HIV rezultă și din investigațiile noastre (16.50).

Metodele de hibridare convențională (și în particular hibridarea *in situ*) au contribuit esențial la aprofundarea înțelegerii imunopatogeniei infecției cu HIV, dar pe plan diagnostic au adus un aport modest.

2.2. INDICATORI IMUNITARI DE PROGNOSTIC (PROGRESIE)

● Prezintă semnificație *generală* de agravare și progresie:
– persistența HIV-antigenemiei;
– dispariția Ac (anti-core);
– scăderea CD4 + (< 25%) și creșterea CD8 +;
– scăderea transformării limfocitelor la mitogeni;
– titru crescut al Ac față de VCM;
– scăderea beta-2 microglobulinemiei;
– anemie + creșterea VSH;
– apariția de autoanticorpi față de colagen.

● Prezintă semnificații *particulare* următorii indicatori:

– producerea mare de autoanticorpi care reacționează cu Complexul Major de Histocompatibilitate (cls. II), alterează răspunsul imun prin perturbarea interrelației CD4–CMH; alții sunt citotoxici chiar față de celulele neinfectate (Li B, Mf, Li T activate);

– producerea de substanțe virale aberante de 25–50 Daltoni care induc imunodepresie, inhibă chemotaxia monocitelor și cresc riscul infecțiilor cu° patogenii intracelulari;

– suprainfecțiile cu virus herpetic, VCM precum și ultravioletele activează alte infecții latente prin o undă suplimentară de imunodepresie (10);

– apariția Ag viral concomitent cu dispariția Ac are semnificația replicării rapide și e urmată de deteriorare clinică și imunologică; Ac față de nucleocapsidă au o mai mare semnificație prognostică (prin scădere) decât față de gp (env);

– răspunsul serologic mai slab al copilului (la transmitere verticală) e corelabil cu severitatea bolii (34);

– raportul T4/T8 are valoare prognostică relativă la adulți și practic nulă la copii; creșterea T8-setul citotoxic – poate fi legată de infecțiile cu VEB și VCM;

– limfopenia absolută, hipergamaglobulinemia și trombocitopenia au valoare prognostică mai mare la noul născut cu boală (născut din mame seropozitive) decât la adult (39).

● **Relații între prognostic și infecțiile oportuniste.**

Tabelul 18

Etiologiile oportuniste și prognosticul imunoclinic în AIDS

Forme etiologice	Relații
Pneumocystis carinii	– Li CD4 reprezintă un bun indicator prognostic la copil (< 250/mm^3: risc major, > 450 elimină riscul) (32), dar atenție la interferența prin tratamentul cu pentamidină+cotrimoxazol în interpretare.
Candida	– Apariția de Ac față de Ag 47 KD al candidomicozei sistemice se asociază cu prognostic bun (36); – Raportul T4/T8 e factor de risc, mai ales dacă T4 sunt < 200/mm^3; – Candidoza localizată a mucoaselor se corelează cu imunodeficitul moderat (în ARC), dar asociată cu S. Kaposi e de prognostic grav, anunțând invazie masivă cu oportuniști.
Toxoplasma	– Slaba pozitivitate sau negativitatea testelor serologice specifice e de prognostic sever; – Creșterea IgM > IgG prin activare policlonală B cu anticorpi anarhici indică severitate.
Micobacterii (tbc)	– Induc reacție granulomatoasă (ca în lepra lepromatoasă) cu macrofage încărcate cu micobacterii și cu persistență.
Herpes zoster	– Apare frecvent în ARC, PEG, precede candidomicoza; rar în AIDS franc (la homosexuali).
Criptosporidioza	– Apare la cei cu terapie citostatică sau cu hipogamaglobulinemie de fond.
Virusul hepatitic B, C	– Prezența a numeroase tratamente i.v. e cel mai comun factor de risc al asociației; – Limfocitele CD4+ sunt mai crescute la HCV+ decât la HCV–; – Anticorpii anti-HCV descresc paralel cu numărul de CD4+; – Probele funcționale hepatice sunt alterate dar evoluția cu VHC și VHB e medie și nu crește severitatea infecției cu HIV (45, 46).
Mycoplasma fermentans, pirum, penetrans	– Favorizează agravarea HIV (inclusiv pozitivitatea markerilor imuni) (40).

În principiu infecțiile oportuniste reprezintă măsura imunodepresiei (34), dar diagnosticul lor e dificil și laborios deoarece se prezintă cu simptomatologie atipică și cu etiologii imprevizibile (*Leishmania, Penicillium marneffey etc.*) (38, 43). Oportuniștii cu patogenitate ridicată apar precoce, cei cu patogenitate scăzută mai târziu când imunodepresia e profundă.

Infecția cu *Mycobacterium avium* se asociază cu următoarele elemente predictive:

– scăderea critică a limfocitelor CD4+ (< 100/mm^3) e de prognostic sever,

– apariția infecției se manifestă în stadii terminale,

– restructurări în domeniul citokinelor: predominența TNF și a CSF-GM asupra interleukinelor (IL-1 și IL-6) e de prognostic bun (primele citokine antagonizează replicarea M avium),

– celulele NK active favorizează acțiunea bacteriolitică a macrofagelor față de *M. avium,* deci depleția limfocitelor NK crește replicarea germenului,

– proba diagnostică e oferită de efectul favorabil al clarithromicinei sau al azithromicinei.

Infecția cu *Mycobacterium avium* prezintă o mare importanță în infecția cu HIV deoarece:

– afectează cu precădere subiecții grav imunocompromiși,

– *M. a.* se asociază cu etapele finale ale bolii (iar tratarea sa eficientă poate prelungi viața). În acest stadiu markerul optim este reprezentat de răspunsul la asociația: amikacin-ciprofloxacin-imipenem (58).

Infecția cu *virus citomegalic* se demască – în infecția cu HIV esențial prin corioretinită și mai rar prin esofagită, pneumonie, colită, encefalită, adrenalită, endometrită, neuropatie periferică. Indicatorii imunoclinici sunt:

– imunodeficitul sever la copii și hemofilici tineri,

– ameliorarea markerilor la ganciclovir și la foscarnet (fosfonoformiat trisodic), cu diminuarea p24 HIV în ser (antigen core) și creșterea LiCD4+,

– ameliorarea clinică a manifestărilor specifice după tratamentul cu foscarnet,

– hipoglicorahia poate fi orientativă în meningoencefalită.

Suprainfecția cu *virus herpetic* tip 1 crește replicarea HIV-1 în celulele infectate, cu exprimarea testelor imunologice (23). În schimb, *herpesvirusul uman* 6 (HV6) nu potențează *in vivo* infecția cu HIV, atâta timp cât antigenemia p24 nu poate fi considerată o măsură exactă a replicării HIV (20).

În suprainfecția cu *toxoplasma,* se consideră că ameliorarea testelor imunopatologice după tratamentul cu pirimetamină + sulfonamide are relevanță, în condițiile în care probele serologice pentru toxoplasme au rareori valoare diagnostică la pacienții cu AIDS. Problema se pune similar la tratamentul cu spiramicină (38).

Coexpresia cu virusurile hepatitice este (46):
- cu virus B ≈ 70%;
- cu virus Delta ≈ 17%;
- cu virus C ≈ 29%.

Replicarea *virusului hepatitei delta (D)* e favorizată la purtătorii cronici;

Imunodepresia produsă de *virusul C* favorizează (probabil) infecția cu HIV dar elucidarea acestei relații va fi posibilă abia atunci când vom putea determina antigenemia C.

PGL (limfadenopatia generalizată persistentă) – 70% se manifestă cu infecție cronică, fără manifestări sistemice, – risc moderat sau scăzut de progresie spre AIDS franc		Li T4 sunt nesemnificative (deseori normale) Li T8 sunt în general crescute Raportul T4/T8 e neconcludent Hipergamaglobulinemia policlonală e constantă Esențial: examenul imunohistologic al biopsiei ganglionare care evidențiază distrucția celulelor reticular-dendritice din centri germinativi și indică riscul de progresiune în 2 ani.
ARC (AIDS-related complex) – manifestări frecvente: scădere în greutate, diaree, dermatită, candidomicoză, leucoplazie orală, tulburări retiniene, – progresie frecventă spre AIDS		Li T4 reduse inconstant (cu valoare prognostică) Li T8 variabil, T4/T8 neconcludent Anergie de tip sensibilitate întârziată Răspuns+ al Mo/Mf la IFN γ-recombinant activat de un extras omorât de toxoplasma.
Sarcom Kaposi		Anergia celulară e cel mai constant indicator (dacă S. Kaposi e unica manifestare) T4 scăzute indică riscul infecțiilor oportuniste Activarea B policlonală se asociază cu infiltrate în plămâni și gg. limfatici.
HIV acut – sindrom mononucleoză-like precoce cu limfadenopatie, febră, cefalee, adinamie, encefalopatie (±), – evoluție variabilă (PGL, ARC, AIDS, latență)		Raportul T4/T8 concomitent cu seroconversia constituie un bun indicator diagnostic.
HIV asimptomatic		Testele imunitare sunt contestate deoarece: homosexualii, hemofilicii, consumatorii de droguri au profil imun afectat în afara HIV; T8 crește prin infecții virale (herpetică) la homosexuali; raportul T4/T8 are valoare numai prin studiu longitudinal în concomitența seropozitivității.

Fig. 86. Markeri imunologici în variantele evolutive ale infecției cu HIV.

Mai dificilă de evaluat – cu ajutorul indicatorilor imunologici – este trecerea prin etapele:

INFECȚIE PRIMARĂ ACUTĂ → LATENȚĂ → PROGRESIE

În acest sens, echipa de la Bethesda (Pantaleo, Graziosi și Fauci) (41a), propun un scenariu care se poate concretiza astfel:

● **În stadiul infecției primare** se produce penetrarea virusului (prin circulație și mucoase). Ca în orice infecție cu virusuri limfotrope sunt abordați ganglionii limfatici regionali. Urmează apoi trecerea în circulație cu viremie intensă și invadarea mai multor grupe de ganglioni limfatici, producându-se limfadenopatia (mai mult sau mai puțin evidentă clinic). Până aici, totul decurge ca în mononucleoza infecțioasă.

● **În stadiul de trecere în latență** se produce o mutare a importanței imunopatogene a infecției cu HIV în organele limfoide; Li CD4 circulante, care erau crescute în stadiul acut, încep să scadă, iar țesuturile limfoide devin sediul de localizare (și de propagare) a HIV. Această schimbare de pondere este explicabilă prin marea disponibilitate a organelor limfoide, ținând cont că limfocitele din sângele periferic reprezintă doar 2% din totalul „pool"-ului limfocitar. Rezultă deci că, în această etapă, ceea ce se întâmplă în circulația periferică nu reflectă corect starea bolii.

Încărcătura virală crescută în organele limfoide în perioada de latență clinică a fost demonstrată prin diferite metode (hibridizare *in situ*, PCR-ADN-HIV, PCR-ARN-reverstranscriptază), care au consemnat valori ale virusului în acestea de 5–10 ori mai mari decât în sângele periferic. Așadar latența clinică nu înseamnă latență virală sau imunopatogenă.

Evenimentele care au loc în această perioadă decurg astfel:

– Organele limfoide devin rezervor de virus: particulele virale complexate cu complementul sau cu anticorpi sunt captate în celulele dendritice foliculare, în centrii germinativi;

– Se inițiază răspunsul imun: celulele dendritice captează antigenul în vecinătatea centrilor germinativi (ca în orice proces imun) și facilitează prezentarea acestuia celulelor imunocompetente.

– O mare proporție de Li CD4 sunt activate în țesuturile limfoide (față de un mic procent în sânge); într-un mediu cu citokine stimulante (TNF α) replicarea virală este favorizată. Deci tot în organele limfoide se decide proliferarea și propagarea virusului.

Așadar descreșterea viremiei plasmatice (și a antigenemiei p24) este semnalul trecerii de la faza acută la cea latentă, indicând schimbarea cineticii Li CD4, care, incluzând și celulele infectate cu virus, indică totodată și scăderea HIV în sângele periferic și creșterea în țesuturile limfoide. La această

descreştere a viremiei în perioada trecerii de la acut la latenţă se adaugă şi faptul că celulele HIV-infectate în organele limfatice (ganglionii limfatici, ţesut amigdalo-adenoidian), prin defecte de mobilizare, devin mai puţin eficiente în efortul de a intra în circulaţie.

● **În stadiul de progresie,** ca urmare a invaziei masive şi a consumului metabolic şi genetic, se produce degenerarea reţelei celulelor dendritice foliculare. În felul acesta scade capacitatea organelor limfoide de a mai capta particulele virale HIV. Lezarea arhitectonică a celulelor dendritice nu mai permite reţinerea virionilor HIV; virusul e recirculat, pe de o parte ca urmare a marii încărcături proliferative, pe de altă parte din cauza epuizării funcţiei de reţinere a organelor limfoide. Rezultatul va fi cea de-a doua viremie, care însă nu mai include alternativa unei noi captări şi relansări importante a răspunsului imun.

Elucidarea imunopatologică a acestor trepte pare a fi esenţială pentru contextul viitor profilactic, diagnostic şi terapeutic al infecţiei. Numai corelarea markerilor periferici cu cei tisulari va putea elucida aceste probleme. Se repetă astfel situaţia prin care a trecut la timpul său patogeneza biochimică a bolilor infecţioase, când am arătat că markerii periferici nu pot fi disociaţi de cei tisulari (17 a), în speţă cu spectrul de organ al afecţiunii.

2.3. INVESTIGAŢIA IMUNOLOGICĂ ÎN EVALUAREA MIJLOACELOR TERAPEUTICE ŞI PROFILACTICE

Primele criterii de evaluare rămân cele referitoare la acţiunea preparatelor asupra virusului de pildă, (13):

● Inhibitori ai reverstranscriptazei: Azotimidina, Didanosina, Antimoniotungstalul, CAPA-23, Fosfonoformiatul, Suramina.

● Inhibitori ai replicării virale: IFN-alfa-A recombinant, Ribavirina.

În ultimul timp au fost identificate proteinele antigenice (imunogene) ale virusului ceea ce deschide perspectiva imunizării active (vaccinării), utilizând pentru aceasta subunităţi sau gene virale incorporate în lanţuri de proteine neutre în calitate de vectori (55).

În principiu, în vederea tratamentului adecvat (obţiuni terapeutice pentru diverse preparate – Dextransulfat, Zidovudină, Dezoxiinozină, Dezoxicitidină, TIBO, Aciclovir, derivaţi benzodiazepinici etc.), este necesară

stabilirea cât mai precoce a diagnosticului, stadiului evolutiv și contextului imunoclinic. Pentru unele mijloace terapeutice și profilactice, investigația imunitară poate reprezenta un criteriu de urmărire a eficienței.

● Pentru ca un marker terapeutic să satisfacă exigențele standard, e necesar ca modificările imunologice apărute în cursul evoluției să se coreleze cu riscurile progresiei în ansamblu, inclusiv a celei clinice. Numărul de limfocite CD4 nu reprezintă un marker esențial. Așa de pildă, efectul benefic al zidovudinei nu poate fi apreciat doar prin efectul de creștere al numărului de limfocite CD4, deoarece acestea reflectă doar potențialul imun în genere. În acest sens se preconizează alți markeri mai veridici: β–2 microglobulina, scăderea Ag–p24, elementele progresiei spre AIDS (29).

În tabelul nr. 19 nu facem referiri la problemele de farmacodinamie a preparatelor respective. În acest sens recomandăm articolele din „The AIDS Reader", 1992, 2/5, 153–160 și 2/6, 189–193. Markerii indicați în tabel au semnificație de principiu, ei fiind – în ultimă instanță – dependenți de doză și de diversele asociații. Alte soluții terapeutice:

● Zidovudină + IFN α: induce diminuarea Ag-p4 dar nu ameliorează numărul de CD+ (prezentând chiar efect limfopenizant),

● Zidovudină + Aciclovir: asociația nu potențează efectul zidovudinei asupra markerilor, rămânând valabil doar efectul aciclovirului asupra virusului herpetic.

● Zidovudină + CD4 recombinant (solubil): protejează (teoretic) efectul antiviral prin blocarea atașării HIV pe gp 120; CD4 recombinat ca monoterapie nu influențează markerii.

În ceea ce privește utilizarea markerilor imunologici pentru evaluarea eficienței imunizărilor, problema trebuie particularizată în funcție de tipul de vaccin utilizat. Criteriul general implică creșterea anticorpilor neutralizanți și al răspunsului T-citolitic, cu limitarea anticorpilor virus-stimulanți (28).

Până în prezent vaccinările s-au experimentat în numeroase alternative: cu virus integral inactivat, cu virus viu atenuat, cu peptide de structură sintetice, cu componente de anvelopă (solubile, recombinante) sau imunizarea cu anticorpi idiotipici. Obțiunea pentru o anumită procedură este însă dificilă datorită loturilor limitate numeric (din motive obiective), datorită faptului că nu se știe încă precis în ce constă (și cum se exprimă) răspunsul maxim protector și datorită dificultăților de a obține un model veridic pe animal (deși s-au făcut încercări pe maimuțe maccacus și cynomolgus).

Cele mai studiate au fost variantele care utilizează ca imunogen gp160 și gp120 (recombinante, solubile, sintetice).

Imunogenul gp160 produce atât imunitate umorală cât și celulară; răspunsul umoral e de scurtă durată, dar poate fi reactualizat prin booster; memoria pentru răspunsul T-dependent durează până la doi ani. Vaccinul determină o descreștere a ARN genomic viral și a numărului total de celule

infectate. Imunogenul gp160 recombinant este eficient şi la persoane infectate (seropozitive) care au cel puţin 400 Li CD4+/mm^3.

Imunogenul recombinant gp160 + p24 (VAXSYN) este eficient la HIV-seropozitivi cu un număr de Li CD4 cuprins între 200–500/mm^3.

Imunogenul gp120 (care este şi receptor), nu poate fi util decât după prelucrarea sa astfel încât să fie eliminată infectivitatea, ceea ce implică un proces de deglicosilare, deoarece situs-urile glicosilate servesc virusul în a se

Tabelul 19

Tratamentul efectuat	Markeri imunologici
Imunoterapie (plasmă de la donori cu titru crescut de Ac anti-p24 neutralizanţi)	Diminuarea (chiar dispariţia) Ag-HIV; Creşterea (tranzitorie) a Li T Reducerea infecţiilor oportuniste; Scăderea ratei de cultivare a virusului.
Zidovudina (30, 41) (± Aciclovir) blochează replicarea virală prin inhibiţia transcriptazei)	Diminuează progresia ARC spre AIDS Scăderea Ag-p24 Creşterea (tranzitorie) a CD4 Apariţia Ac p24 în ser (deci raport Ag p24/Ac p24) Ameliorarea trombocitopeniei (dar se accentuează anemia şi leucopenia)
Didanosina (18) (ddI) are acţiune anti-HIV ca Zidovudina dar cu unele particularităţi: ● asupra HIV-1 > HIV-2 ● are cel mai mic efect mielotoxic din tot grupul dideoxinucleotizilor ● e cea mai bună alternativă la intoleranţa faţă de Zidovudină ● asociaţia Didanosină + Ganciclovir e optimă în suprainfecţia cu virus citomegalic.	Scăderea Ag-p24 Creşterea (tranzitorie) a Li CD4 (dar nu are efect când se pleacă de la CD4 < 100) Ameliorarea parametrilor hematologici Creşterea intervalului dintre infecţiile oportuniste Instalarea rezistenţei (prin mutante virale) se exprimă prin progresia biologică a bolii.
Papaverina (blochează replicarea virală, inhibă fosfodiesterazele celulare?) permite reducerea dozei de Zidovudină (3)	Inhibă exprimarea gp 160 (precursorul), a Ag-p24; Creşte CD4 (cu 20–40%)
Zalcitabina (18.53) (ddE) are acţiune antivirală similară cu toţi analogii nucleozidici, cu unele particularităţi: ● prin toxicitate şi rată de supravieţuire e sub nivelul Didanosinei şi probabil şi sub cel al Zidovudinei ● indicată în caz de intoleranţă la Zidovudină şi ddI sau în asociaţii (concomitente sau alternante)	Scădere (similară) a Ag-p24 Creştere tranzitorie a CD4 (mai pronunţată la asocierea cu Zidovudina) Ameliorarea markerilor se produce la un nivel al CD4 de puţin 300/mm^3 dar ca monoterapie are efect inferior faţă de Zidovudină

sustrage efectorilor imuni. Deocamdată s-a arătat că eliminarea majorității situs-urilor N-glicosilate localizate în regiunea V3 și în regiunea C-terminală a gp120 nu anihilează infectivitatea, în schimb eliminarea a 2 situs-uri în jumătatea terminală N a gp120 o anulează, existând premise ca prin această soluție să se obțină un vaccin eficient.

Imunogenul gp120 + 160 recombinant (produs în *E. Coli* sau pe alt substrat celular) influențează favorabil markerii imunitari. În final, se consideră că imunogenii de anvelopă ar fi superiori (core pl 17 și p24 gag produc un slab răspuns T-citolitic, răspuns considerat esențial în limitarea diseminării HIV) (VIIIth International Conference on AIDS, Amsterdam, 1992).

Problema *introducerii inhibitorilor HIV-proteazei* în terapia bolii a pornit de la următoarele premise:

● Fiind un retrovirus, HIV conține informația genetică în ARN; în cursul infecției celulare, această informație genetică trebuie transcrisă ADN-ului, care este incorporat în genomul celulei țintă (gazdă). În timpul acestei transcripții inverse se pot produce diverse mutații, HIV-1 și HIV-2 fiind cele mai comune.

● Reanalizându-se posibilitățile teoretice de a interfera ciclul intracelular al virusului, se delimitează următoarele (14):

– blocarea recepției (aderării și penetrării),

– inhibiția transcripției inverse a ARN-ului viral în ADN; este de fapt alternativa materializată prin analogii nucleozidici (Zidovudină și similare: dideoxiinozină, dideoxicitidină),

– inhibiția integrării ADN-ului viral în genomul celulei gazdă,

– blocarea sintezei proteinelor virale,

– inhibiția procesării proteinelor (glicosilare, clivaj al precursorilor),

– interferarea asamblării și eliminării particulelor virale.

Începând cu anul 1989, cercetările s-au orientat către alternativa inhibării HIV-proteazelor. Așa cum se întâmplă la toate retrovirus-urile, produsele inițiale ale genelor gag și pol sunt procesate de protează în fragmente mici care devin proteinele funcționale ale virusului matur (fig. 87).

Cercetările (care sunt în curs), au stabilit următoarele (14):

– HIV-proteaza aparține clasei aspartic-proteazelor, deoarece poate fi inhibată prin cel mai cunoscut inhibitor al acestei clase: Pepstatinul A.

– S-a reușit cristalizarea și stabilirea structurii HIV-proteazei și s-au identificat inhibitorii prin analogie de substrat.

– Mecanismul inhibiției are la bază interacțiunea dintre grupul hidroxil cu unitățile de acid aspartic din situs-urile active.

Pentru următorul stadiu al investigațiilor se ridică două probleme esențiale:

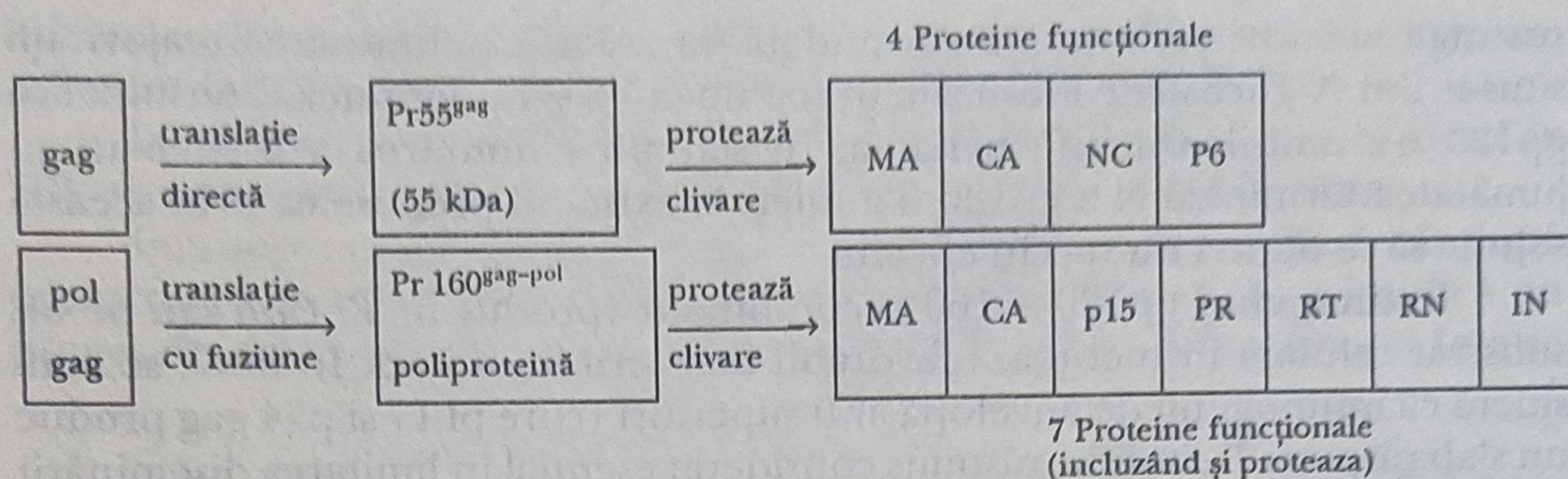


Fig. 87. Procesarea genelor gag-pol.

– de a optimiza prima generaţie de inhibitori (de pildă hidroxietilen-izosterul-dipeptid), pentru a rezista *in vitro,* la acţiunea endopeptidazelor şi a le conferi o bună toleranţă,

– confirmarea efectului inhibitor asupra replicării virale în culturi celulare şi a celui de reducere a infectivităţii virusului (cu compusul EMD 57464 s-a obţinut o reducere de 100 ori).

Ca urmare a aprofundării cunoştinţelor referitoare la substratul molecular al imunopatogeniei infecţiei cu HIV, s-a conturat recent perspectiva terapiei prin transfer de gene. Premisa cercetărilor a fost de a introduce în celulele susceptibile de infecţie cu HIV (sau chiar infectate) a unei gene străine care, fie produce moartea celulei infectate, prevenind astfel difuzarea virusului, fie interferează specific replicarea virală.

Prima alternativă (efectul citocidal înainte de replicare) s-a obţinut prin mai multe proceduri experimentale (8a):

– Prin folosirea unui factor retroviral murin pentru a introduce gena de anvelopă în fibroblaşti: exprimarea gp160 de anvelopă induce efectorii imuni (limfocite -T-citotoxice specifice de anvelopă şi anticorpi specifici).

– Prin introducerea genei tk (timidinkinază) a virusului herpetic, se pot elimina LiT citotoxice genetic alterate ca urmare a inhibiţiei sintezei de ADN, urmată de moarte celulară.

– Pornind de la fracţiunea A a toxinei difterice (care catalizează adenozinfosfat-ribozilarea factorului de elongaţie şi inhibă astfel sinteza proteică – mecanism patogenic de mult cunoscut în difterie –), se obţine gena Luc (luciferaza), ca marker specific. Se ridică însă probleme tehnice deosebite ca urmare a toxicităţii dezvoltate după exprimarea toxinei difterice A.

Interferenţa cu replicarea virală (evitându-se distrucţia celulară) s-a obţinut prin componente modificate ale virionilor (ca de pildă cu anumite secvenţe ale acizilor nucleici), prin ribozime (mici molecule de ARN apte de

a cataliza clivarea secvențelor specifice ale ARN-ului), sau prin mutante ale proteinelor virale (dominant negative).

Toate aceste alternative se află în stadiu de experiment.

CONCLUZII

1. Cunoașterea și aprofundarea mecanismelor imunopatologice care se dezvoltă în infecția cu HIV este necesară pentru înțelegerea patogenezei bolii în toată complexitatea sa. Întrucât sindromul imunodeficienței umane este eminamente o stare disimună dinamică și complexă, toate celelalte aspecte (clinica, evoluția, complicațiile, profilaxia și terapia) depind de această înțelegere imunopatogenică.

2. Testele care definesc statusul disimun în AIDS nu servesc substanțial procedura diagnostică, domeniu în care, la fel ca în genere în patologia infecțioasă, pe primul loc se află identificarea agentului etiologic și a anticorpilor specifici.

3. Investigația imunitară de fond (teren) este în măsură de a furniza date utile în domeniul prognostic (indicatori de progresie), în vederea definirii variantelor evolutive și a evaluării unor mijloace de profilaxie și tratament.

BIBLIOGRAFIE

1. ALLAIN J.P., PAUL A. DEBORAH, LAURIAN Y., SENN D. – *Serological markers in early stages of Human Immunodeficiency virus infection in Haemophiliacs;* 1986, II/8518, 1233–1326.
2. AMEGLIO F., DOLEI A., BENEDETTO A., SORRENTINO R., TANICAKI N., TOSI R. – *Antibodies reactive with Nonpolymorphic Epitopes on HLA Molecules Interfere in Screening tests for the HIV:* J. Infect Dis., 1987, 156/6, 1034–1035.
3. BASSETII D., LOZZATI R., DI PERRI G., SEGRE G., – *Recovery of Immunological cutaneos responsiveness in the Acquired Immune Deciency Syndrome following Treatment with papaverine;* J. of Infection 1989, 18/3, 299–301.
4. BLASER M.J., COHN D.L., – *Opportunistic Infection in Patients with AIDS: Clue to the Epidemiology of AIDS and the Relative Virulence of pathogens;* Rev. of Infect. Dis., 1986, 8/1, 21–31.
5. BLUMBERG R.S., PARADIS T., HARTSHORN K.L., VOGT M., HO D.D., HIRSCH M.S., LEBAN J., SATO V.L., SCHOOLEY R.T. – *Antibody–Dependent Cell Mediated Cytotoxicity against Cells Infected with the Human Immunodeficiency Virus;* J. Inf. Dis., 1987, 156/6, 878–884.
6. BORKOWSKY W. – *Early Diagnosis of Immunodeficiency Virus Infection in Children < 6 Mounth of Age; Comparaison of Polymerase Chain Reaction,* Culture and Plasma Antigen Capture Techniques; J. Infect. Dis., 1992, 166/3, 616–619.
7. BORKOWSKY W., PAUL D. BEBENROTH D., KRASINSKI K., MOORE T., CHANDAWANI S. – *Human immunodeficiency virus infection in infants negative for anti-HIV by Enzime–Linked – Immunoassay;* Lancet, 1987, I/8544, 1168–1170.

8. BREEN ELISABETH C., REZAL A.L., NAKAJIMA K., BEALL G.N., MITSUYASU R.T., HIRANO T., KISHIMOTO T., MARTINEZMAZA O. – *Infection with HIV is asscociated with elevated Il-6 levels and production;* J. of Immunology, 1990, 144/2, 480–484.

8 a. BUCHSCHACHER G.L. – *Molecular Targets of Gene Transfer Therapy for HIV Infection;* JAMA, 1993, 269/22, 2280–2885.

9. BURTONBOY G., BODEUS M. – *Diagnostic d'une infection par le virus de l'Immunodeficience Humaine (VIH);* Forum Diagnosticum, 1990, 3–4, 47–62.

10. CLUMECK N. – *Syndrome d'Immunodeficience acquise;* Tempo Med. Belg., 1984, 46/9, 47–55

11. COREY L., COOMBS R.W., – *Natural Hystory of HIV infection;* Clin Inf. Dis. 1993, 16 (suppll), 2–6

12. COUROUCE ANNE-MARIE, MULLER J.Y., RICHARD D. – *False-positive Western Blot Reaction to Human Immunodeficiency Virus in Blood Donors;* Lancet 1986, II/8512, 912–922.

13. DE WIT R., BOUCHER CH.B., VEENHOF K.H.M., SCHATTENKERT J.K.M., DANER S.A. – *Clinical and Virological efects of high-dose recombinat interferon – alfa in dissiminated AIDS–related Kaposi's sarcoma;* Lancet, 1988, II/8622, 1214–1217.

14. DORSCH D., RADDATZ P., SCHMITGES C.J., HELM (von der) K., RIPPMANN F. – *HIV Protease Inhibitors-a Promising New Classs of AIDS Therapeutics;* Kontacte (Darmstadt) 1993, 2, 48–55.

15. DRAGOMIRESCU M. – *Immunoclinical corelations in HIV infection;* First Nat. Congress on HIV and AIDS, Bucureşti, 1991, 22.

16. DRAGOMIRESCU M., SABĂU I. CURESCU MANUELA., NEGRUŢIU L., ŞERBAN M., LUPU DOINA., DRAGOMIRESCU LETIŢIA – *Clinical epidemiological observation in Children infected with HIV;* First Nat. Congress on HIV and AIDS, Bucureşti, 1991, 36–37.

17. DRAGOMIRESCU M., SZIRBIK N., KEREKES CLARA, BĂBĂLĂU A., DRAGOMIRESCU C., ANDRIUŢA A., SĂLĂGEAN L., – *An expert System useful for the prospective medical research;* Congress Nat. Informat. Med., 1993, (Timişoara) 100–101.

17 a. DRAGOMIRESCU M., ROCSIN M., BUZINSCHI S., MARŢINCU V., – *Impaired phsphorilation of infections of various etiologies;* Arch Roum. Pathol. Exper. Microbiol. 1977, 3–4/36, 285–281.

18. EDITORIALS – *Didanosine;* Clin. Inf. Dis. 1993, 16 (supll) 16–21, 26–31, 32–39, 40–45, 46–51, 63–68, 69–73.

19. FABIO G., MARCHINI M., SMERALD R.S., ZARANTONELLO M., TARANTINI G., ORINGERA A., ANTONIOLI R., – *Possible association of HLA DR2 Phenotype and detectable HIV p24 antigen in HIV-positive Pacients;* J. Infect. Dis., 1993, 2/167, 449–450.

20. FOX JULIE, BRIGOS MOYA TEDDER R.S. – *Antibody to Human Herpesvirus 6 in HIV-1 positive and negative homosexual men;* Lancet, 1988, II/8607, 396–397.

21. FÜST G. – *AIDS, Realities and Hopes;* Therapia Hungarica, 1990, 38/3, 91–98.

22. GAINESH., SONNERBORG A., CZAJKOWSKI J., CHIODI FRANCESCA, FENYO EVA MARIA, VON SYDOM MADELEINE, ALBERT J., PEHRSON P.O., MOBERG L., ASJO BRIGITTA, FORSGREN MARIANNE – *Antibody response in primary Human Immunodeficiency Virus Infection,;* Lancet, 1987, I/8544, 1249–1253.

23. GOLDEN–MAJORIE P., HAMMER S.M., LADD ELIZABETH A., SCHEFFER – PRISCILLA A., DELUCA N., ALBRECHT MARY A. – *Activation of Human Immunodeficiency Virus by Herpes Simplex Virus;* J. Infect. Dis., 1992, 3/166, 294–299.

24. GOLDSMITH J., PAUL A., DEBORAH LANGE J.M.A., SPEEL AN H., NOORDAA V.D., HELM J.V.D., DE WOLF H., EPSTEIN L.G., KRONE J.W.A., WOLTERS E.C., OLESKE J.M., COUTHINCO R.A. – *Expression of HIV-Ag in Serum and Cerebrospinal fluid during acute and chronic Infection;* Lancet, 1986, II/8500, 177–180
25. GRANT M.D., WEAVER M.S., TSOUKAS C., HOFFMANN G.W. – *Distribution of Antibodiees aginst denatured Collagen in AIDS risk groups and homosexual AIDS Patients suggests a link between Autoimunity and the Immunopathologenesis of AIDS;* J. of Imunology, 1990, 144/4, 1241–1250.
25 a. GROSVENOR MARY B. – *Nutrition in HIV Infection: Concepts and Strategies;* The AIDS Reader, 1992, 2/5, 165–170.
26. HORSBURGH C.R., JASON JANINE, LONGINI M. IRA, MAYER K., SCHOCHETMAN G., ROIHERFORD G.W., SEAGE G.R. OU CHIN YIN., HOLMBERG S.D., SCHABLE C., LIFTSON R., WARD J.W., EVATT B.L., JAFFE H.W. – *Duration of HIV infection before detection of Antibody;* Lancet, 1989, II/8664, 637–639.
27. ITESCU S., BRANCATO L.G., WINCHESTER R. – *A SICCA Syndrome in HIV infection; association with HLA–DR5 and CD8 lymphocytosis;* Lancet, 1989, II/8661, 466–468.
28. JACKSON G.G., RUBENIS MARY, KNIGGE M., PERKINS J.T., PAUL DEBORAH, DESPOTES JOANNE, SPENCER PATRICIA – *Passive immunoneutralisation of human Immunodeficiency Virus in patients with advanced AIDS;* Lancet, 1988, II/8612, 647–651.
29. LAGAKOS S.W. – *Surogat markers in clinical Trals;* Clin. Inf. Dis. 1993 (suppl. 1), 22–25.
30. LANGE I.M.A., DE WOLF F., NULDER J.W., CONTINNO R.A., NORDAA J., GOUDSMIT J. – *Markers for progresion to AIDS and Zidovudine treatment in asyptomatic patients;* J. of Infection, 1989, suppl. 1, 85–91.
31. LEDERMAN M.M., CAREY J.T., SCHACTER BERNICE, AUCOTT J., ELLNER J.J – *Lymphocites of persons with the Acquired Immunodeficiency Syndrome and Related Conditions Express Reactivity with the Monoclonal Antibody 4D12 Reflective of in Vivo Lymphocite Activation;* Human Immunol., 1987, 2014, 279–291.
32. LEIBOVITZ E., REIGAUD MONA, POLLACK H., LAWRENCE R., CHANDWANI S., KRASINSKI K., BORKOWSKY W. – *Pneumocystis carinii Pneumonia in infants infected with HIV more than 450 CD4 T Lymphocytes per cubic millimeter;* New Engl. J. Med. 1990, 23/8, 531–533.
33. MANN D.L., GARTNER SUSANE, LE SANE F., BUCHOW H., POPOVIC M. – *HIV-1 transmission and function of virus-infected Monocytes/Macrophages;* J. of Immunology, 1990, 1440/5, 2152–2158.
34. MARTIN K., KATZ B.Z., MILLER G., – *AIDS and Antibodies to Human Immunodeficiency Virus (HIV) in Children and their Families;* J. Infect. Dis., 1987, 155/1, 54–63.
35. MARTINEZ A.C., HERA A., ALONSO J.H., MARCOS M.A.R., MARQUEZ C., TURIBIO M.L., COUTINHO A. – *Immunological conseqences of HIV infection: advantage of being low responder casts doubts on vaccine development;* Lancet, 1988, II/8583, 454–456.
36. MATTHEWS R., SMITH D., MIDGLEY J., BORNIE J., CLARK I., CONOLLY M., GAZZARD B. – *Candida and AIDS: Evidence for protective antibody;* Lancet, 1988, II/8605, 263–265.
37. MERMIN J., GRANICH R. – *Maternal–Fetal Transmission of Human I Immunodeficiency Virus;* Clin. Inf. Dis. 1993, 16/6, 828–829.
38. MILLS J. – *Pneumocystis carinii and Toxoplasma gondii Infections in Patients with AIDS;* Rew. of Infect. Diseases, 1986, 8/6 1001–1011.
39. MOK J.Y.Q., HAGUE R.A., TAYLOR R.F., BRETTLE R.P., HARGREAVS F.D, INGLIS J.M., YAP P.L. – *The management of Children born to Human Immunodeficiency Virus seropositive Women;* J. of Infect. 1989, 18/2, 119–124.

40. MONTAGNIER L., BLANCHARD A. – *Mycoplasmas as Cofactors in Infection Due the Human Immunodeficiency Virus;* Clin. Inf. Dis. 1993, (suppl.) 17, 309–315.
41. NATHWANI D., GREEN S.T., KENNEDY D.H., LOVE W.C., GOLDBERG D., FALLON – *HIV related thromocytopenia: is Zidovudine a therapeutic option?* J. Infection 1989, 19/3, 288–290.
41 a. PANTALEO G., GRAZIOSI CECILIA, FAUCI A.S. – *The Immunopathogenesis of Human Immunodeficiency Infection;* New Engl. J. Med., 1993,328, 327–335.
42. PIERCE G.F., POLMAR S.H., SCHACTER Z. BERNICE, BROVAL CHARLOTE, HORSNICK D.L., SORENSEN R.V. – *Natural Cytotoxicity in Immunodeficiency Diseases: Preservation of Natural Killer Activity and the in Vivo Appearance of Radiorezistant Killing;* Human Immunol., 1986, 15/1, 85–96.
43. PINCHING A.J. – *Immunology of AIDS and HIV Infection;* Clinics in Immunology and Allergy, 1986, 6/3, 645–660.
44. POLI G., PANTALEO G., FAUCI A.S., – *Immunopathogenesis of Human Immunodeficiency virus Infection;* Clin. Inf. Dis. 1993, (suppl 1) 17, 224–230.
45. QUAN CORINA M., KRAIDEN M., GRIGORIEW G.A., SALIT I.E. – *Hepatitis G Virus Infection in Patients Infected with the Human Immunodeficiency Virus;* Clin. Inf. Dis. 1993, 17/1, 117–119.
46. RANGER S., AUSSEL L., WEINBRECK P., LOUSTAUD V., ROGUES A.M., MOUNIER M., DELPEIROUX C., DENIS F. – *Seroprevalence de l'Hepatite C chez les suqets contamines par le virus de l'immunodeficience humaine;* Pth. Biol. 1991, 39/2, 126–130.
46 a. REISCHL V., MAYER J., WAGNER R. – *Aktuelle Methoden der HIV – Diagnostik;* Bioforum, 1993 12, 455–462.
47. RIBERA E., OCANA I., ALMIRANTE B., GOMEZ J., MONREAC P., MARTINEZ J.M. – *Autoimune neutropenia and trombocytopenia associated with development of antibodies to human Immunodeficiency virus;* J. of Infection, 1989, 18/2, 167–170.
48. ROBINSON W.E., MONTERIORI D.C., MITCHELL W.M. – *Antibody–dependent enchancement of human immunodeficiency virus type 1 infection;* Lancet, 1988, I/8589, 790–794.
49. ROSENHEIM M., ITOUA-NAGAPORO A. – *Red-SIDA, Infection a VIH,* Edit Ellipses (Paris), 1989, 25–31.
50. SABĂU I., DRAGOMIRESCU M., ŞERBAN MARGHIT, COSTA RODICA, NEGRUŢIU L., CRISTOI LUCREŢIA, DRUGĂRIN DOINA, MĂLAI ANCA, LESOVICI MARINELA, JIENAR STANA, LUPU DOINA, CURESCU MANUELA, CRIŞAN A. – *Bioimunological particularities in children infected with HIV;* First Nat. Congres on HIV and AIDS, Bucureşti, 1991; 39–41.
51. SMALL T.N., KEEVER CAROLYN, COLLINS DUPONT B., O'REILLY R.J., FLOMENBERG N. – *Characterization of B cells in severe Combined Immunodeficiency Disease;* Human Immunol; 1989, 25/3, 181–193.
52. SOGIMOTO M., NAKASHIMA H., WATANABE S., UYAMA E., TANAKA E., ANDO M., ARAKI S. – *T limphocyte alveolitis in HTLV-1 associated myelopathy;* Lancet, 1987, II/8569, 1220.
53. SOMMADOSSI J-P. – *Nucleoside analogues;* Clin. Inf. Dis. 1993, 16 (suppl. 1), 7–15.
54. TAYLOR J.M., SCHWARTZ K., DETELS R. – *The Time from Infection with HIV to the onset of AIDS;* J. Infect. Dis. 1986, 154/4, 694–697.
55. VOGT M., HIRSCH M.S. – *Prospects for the Prevention and Therapy of Infections with the Human Immunodeficiency Virus;* Rew. of Inf. Diseases, 1986, 8/6, 991–1000.
56. VOTH R., ROSSOL S., GRAFF E., LAUBENSTEIN H.P., SCHRODER H.C., MULLER W.E.G., MEYER ZUM BUSCHENFELDE K.H., HESS G. – *Natural Killer Cell Activity as a Prognostic Parameter in the Progression to AIDS;* J. Inf. Dis. 1957. 157/4, 851–852.
57. WAECKER N.J., ASCHER D.P., ROBB M.L., MORIARITY R., KROBER M., RICKMAN W.J., BUTZIN C.A., FISCHER G.W., and the Military Pediatric HIV

Consortium – *Age–Adjusted CD4 + Lymphocyte Parameters in Healthy Children at Risk for Infection with the Human Immunodeficiency Virus;* Clin. Inf. Dis. 1993, 17/1, 123–125.

58. YOUNG L.S., INDERLIED C.B., BERLIN G.O., GOTTLIEB M.S. – *Mycobacterial Infection in AIDS Patients;* Rev. Infect. Dis. 1986, 8/6, 1024–1033.
59. ZARLING J.M., LEDBETTER J.A., SIAS J., FULTZ PATRICIA, EICHBERG J., CJERSET G., MORAN A. PATRICIA – *HIV-infected Humans, but not Chimpanzees, have circulating cytotoxic T Lymphocites that lyse unifected CD4 + cells;* J. of Immunology, 1990, 144/8, 2992–2998.
60. ZON L.I., ARCHIBALD D.W., MC LANE M.F., ESSEEX M., HEPNER M.J., GROOPMAN J.E. – *IgA deficiency and salivary transmision of human immunodeficiency virus;* Lancet, 1986, II/8514, 1039–1040.

ACTUALITĂȚI ÎN IMUNOPATOLOGIA ENDOCRINĂ

Conf. dr. MARIAN BISTRICEANU
membru corespondent al Academiei de Științe Medicale
Disciplina de endocrinologie
și sexologie
Facultatea de Medicină
Craiova

Elementele de bază ale sistemului endocrin sunt cele două tipuri de celule specializate: a) celula endocrină producătoare a unei substanțe chimice cu rol de mesager, numită hormon; b) celula țintă care conține un receptor specific ce primește informația transmisă de hormon, răspunzând printr-un anumit efect. Cele două elemente fundamentale, care formează un sistem informațional, s-au diferențiat în cursul evoluției filogenetice, având la bază același determinism genetic.

Una dintre cele mai evocatoare asemănări între sistemul endocrin și cel imun, este reprezentată de mecanismul de legare a Ag, respectiv a hormonului de receptorul specific. Asemănarea dintre Ig și hormoni se poate extinde și asupra structurii funcționale: hormonii conțin regiuni de legare, ca și Ig, dar și regiuni de imprimare a unei funcții, precum fragmentul Fc al Ig.

Zona de interferență între cele două mari sisteme de autocontrol ale organismului, vizează asigurarea homeostaziei mediului intern prin sistemul neuroendocrin, iar cel imunocompetent asigură constanța proteinelor de structură ale peretelui celular, deci a selfului. În consecință, perturbarea homeostaziei imune are drept rezultat și afectarea sistemului endocrin.

Multe aspecte neelucidate din domeniul endocrinologiei, au fost reinterpretate prin prisma conceptului receptorului și al receptivității. Interpretarea imunologică conferă substratul etiopatogenic al unor afecțiuni endocrine considerate până de curând esențiale sau idiopatice.

Elucidarea mecanismelor imunopatologice ale bolilor endocrine, va facilita intervenția terapeutică eficientă prin imunoreglare – înainte ca glanda endocrină afectată să fie complet distrusă, dar vizează concomitent și profilaxia endocrinopatiilor autoimune prin imunoterapie.

Întrucât perturbările imunologice sunt implicate în etiopatogenia numeroaselor endocrinopatii, considerăm că progresele atât de rapide în acest domeniu al imunoendocrinologiei, impun aducerea la zi a cunoștințelor consacrate patologiei imune a sistemului endocrin.

SISTEMUL HIPOTALAMO-HIPOFIZAR

DIABETUL INSIPID CENTRAL IMUN

Diabetul insipid central, consecinţă a deficitului de argininvasopresină (AVP), principalul hormon antidiuretic al omului, este etichetat ca o manifestare clinică patognomonică pentru o leziune hipotalamică localizată în nucleii supraoptic şi paraventricular.

La triada simptomatică: poliurie hipostenurică diurnă şi nocturnă, sete, polidipsie, se adaugă semnele specifice agentului etiologic şi particularităţi legate de vârsta debutului, asociate cu tulburări neurologice induse prin hipernatremie.

Dintre numeroasele cauze ale diabetului insipid central, recent au fost identificaţi anticorpi, anticelule ADH-secretoare, la 30% din totalul cazurilor care erau etichetate drept „idiopatice" (56). Imunoglobulinele ce leagă celulele ADH-secretoare sunt de tip IgG şi IgA care au şi capacitatea de a cupla hormonul ca atare, fiind asimilate unor transportori plasmatici de ADH. Distrugerea cu antiseturi anti-AVP a nucleilor magnocelulari hipotalamici, reprezintă un augument experimental al patogeniei imune (38). De asemenea, s-a avansat ideea că tot o leziune hipotalamică prin mecanism imun, poate să inducă şi alţi factori cauzali ai diabetului insipid central: infecţiile virale sau streptococice, encefalitice, sarcoidoza, postvaccinal (adesea cu vaccin antirujeolic), limfoame (17).

Un sindrom complex în care se asociază diabetul insipid (D.I.) cu diabetul zaharat (diabetes mellitus: D.M.), atrofia optică (O.A.) şi surdomutitatea (deafness: D) este cunoscut şi sub denumirea de DIDMOAD sau sindromul Wolfram (89). Acest sindrom ereditar, transmis autosomal recesiv, se poate asocia cu HLA-DR2. Deşi nu s-au adus toate argumentele pentru etiopatogenia autoimună a acestui sindrom, Karasik şi colab. – 1989 (55) au demonstrat că şi în această entitate clinică, dispar celulele beta-pancreatice în contextul persistenţei celulelor alfa şi delta, ca şi în diabetul zaharat insulinodependent.

HIPOFIZITA IMUNĂ

Este cunoscută şi sub denumirea de hipofizită limfocitară şi generează manifestările clinice specifice insuficienţei hipofizare (63). Pentru apariţia simptomelor de panhipopituitarism este necesară liza a 90% din celularitatea adenohipofizară.

Din punct de vedere al incidenţei în cadrul formelor etiologice, panhipopituitarismul generat de hipofizita limfocitară nu este riguros evaluat, deşi datele furnizate de Imura – 1985 (52) relevă că din cele 1 060 cazuri cu insuficienţă hipofizară, 115 erau etichetate ca „idiopatice".

Hipofizita limfocitară este descrisă mai frecvent la femei, dar poate fi întâlnită la ambele sexe (3), fiind asociată adesea cu alte boli autoimune precum anemia Biermer, tiroiditele autoimune, diabetul zaharat insulinodependent, hipoparatiroidismul, corticosuprarenalita autoimună. Boala a putut fi reprodusă experimental prin inoculare de extract hipofizar în adjuvant Freund complet.

Primii autoanticorpi evidenţiaţi prin imunofluorescenţă au fost cei anticelule prolactinice la pacienţi cu afecţiuni endocrine autoimune (26). Ulterior au fost descrişi anticorpi anticelule gonadotrope, corticotrope, somatotrope. Deşi se presupune că, în hipofizita imună, ar exista nu numai anticorpi anticelule hipofizare ci şi autoanticorpi anti-hormoni hipofizari, prezenţa acestora din urmă nu a fost încă evidenţiată (17).

Prin imunofluorescenţă au fost identificate pe hipofizele umane, trei tipuri de autoanticorpi (75) (28):

- tipul I: imunofluorescenţă pozitivă în grupuri foarte mici şi neregulat distribuite: anticorpii pot reacţiona cu două tipuri diferite de celule;
- tipul II: cu pozitivitate mai mare dar cu plaje întinse-negative.
- tipul III: pozitivitate difuză, punctată sau granulată.

Interpretări patogenice recente, avansează două alternative ale insuficienţei hipofizare primare autoimune: fie apariţia de anticorpi ce duc la distrugerea hipofizei, fie afectarea hipofizei printr-un alt proces patologic ar iniţia apariţia de anticorpi anticelule hipofizare (63). Aceşti anticorpi anticelule hipofizare au fost identificaţi în sindromul de şa turcească „goală" (empty sella) în proporţii diferite: 75% anticelule corticotrope, 15% anticelule prolactinice.

Pentru confirmarea diagnosticului, în afara imunofluorescenţei este necesar examenul histopatologic al hipofizei care relevă prezenţa infiltratului limfocitar ce conţine în grade variabile limfocite T, B şi macrofage.

Aceste date recente, semnalate în literatura de specialitate (6) (11) (17) (39) (50) ne sugerează ideea că patologia hipofizară imună ar putea fi mult mai frecventă decât o intuim.

GLANDA TIROIDĂ

Mecanismele imune sunt implicate în spectrul larg al bolilor tiroidiene, fiind prezente atât în hipertiroidism cât şi în hipotiroidism (27) (34) (62) (65) (91).

Pentru bolile tiroidiene imune este demonstrată tulburarea imunoreglării prin deficienţe ale limfocitelor Ts, dar se ia în discuţie şi posibilitatea dereglării interacţiunilor idiotip-antiidiotip (17) (18) (20) (46) (68) (72) (71) (77).

În general, termenul de boli autoimune tiroidiene defineşte un grup de afecţiuni caracterizate prin prezenţa anticorpilor antitiroidieni în circulaţie şi ţesuturi şi infiltrarea variabilă cu limfocite a tiroidei. Majoritatea autorilor consideră că patologia autoimună tiroidiană „clasică" include boala Graves-Basedow, tiroiditele cronice (auto) imune şi hipotiroidismul primar autoimun. Studii recente au demonstrat că şi alte afecţiuni tiroidiene (carcinomul tiroidian, tiroidita subacută, tiromegalia sporadică) induc pe parcursul evoluţiei lor perturbări imunologice (88).

BOALA GRAVES-BASEDOW

Este o afecţiune autoimună care asociază în forma clasică manifest. ile clinice de hipertiroidism cu tiromegalia şi exoftalmia (oftalmopatia) imună (54). La circa 5–10% din cazuri se întâlneşte şi dermopatia sau „mixedemul circumscris pretibial".

Deşi procesele patogenice încep să fie descifrate, cunoaşterea evenimentelor care predispun la apariţia bolii este dominată încă de incertitudine. Este unanim admis că elementul direct care generează hipertiroidismul îl reprezintă stimularea tireocitului prin imunoglobuline ce leagă receptorul întreg sau părţi din receptorul TSH (47) (80) (91). Rolul declanşator al modificărilor în reţeaua imună, este actualmente atribuit corelaţiei dintre factorii endocrini, imunologici şi psihici, fiecare în parte contribuind la perturbarea echilibrului informaţional de care ţine activitatea adecvată a funcţiei tiroidiene (13) (23) (21) (57) (22).

La nivelul glandei tiroide, au fost descrise până în prezent, următoarele tipuri de antigene: a) moleculare: tiroglobulina (Tgl); hormonii tiroidieni (T_3, T_4) ce pot funcţiona ca haptene, probabil împreună cu aminoacizii adiacenţi de pe molecula de Tgl; b) microzomale: peroxidaza tiroidiană (TPO) cu structură mozaicată; c) ne-microzomale pe suprafaţa celulelor tiroidiene: Ag cu GM 70 KDa, Ag proteic de membrană cu GM 64 KDa comun celulei tiroidiene şi ţesutului orbital; d) receptori prezenţi pe membrana celulelor tiroidiene umane ai: TSH-ului, triiodotironinei (T_3), tiroxinei (T_4) şi beta-adrenergici; e) receptori tiroidieni potenţiali pentru: histamină, agenţi virali

și bacterieni, prostaglandine, complement. Receptorii prostaglandinelor pot modula expresia antigenelor HLA-DR pe tirocite, iar receptorii complementului ar putea lega complexele imune, inițiind astfel un ciclu ce are ca rezultat distrugerea tirocitelor. S-a avansat ideea că toți acești receptori ar putea avea rol în modularea receptorului TSH (R-TSH) (34) (88). Receptori care leagă TSH-ul au fost evidențiați și în alte țesuturi și celule: testicul, suprarenale, neutrofile și adipocite.

Din 1956, când Adams și Purves au descoperit factorul stimulator al tiroidei, diferit de TSH, denumit LATS (long acting thyroid stimulator) și identificat ulterior ca imunoglobulina, au fost descriși până în prezent următorii autoanticorpi implicați în patogenia bolii Graves-Basedow: a) antireceptor TSH (cu efect TSH-like: LATS; LATS-P (LATS-protector); HTI (human thyroid stimulating immunoglobulins); TBIA (thyroid binding- inhibitory antibodies); TSAb (thyroid stimulating antibodies); TDA (thyrotropin displaceing antibodies); b) autoanticorpi anti-Tgl și anti-TPO. Aceste tipuri de imunoglobuline au capacitatea de stimulare concomitentă a creșterii și funcționării foliculilor tiroidieni. O parte din acești autoanticorpi au fost însă identificați și în alte tireopatii, fiind considerați ca, markeri ai dereglării sistemului imunitar. Studiul anticorpilor monoclonali va facilita clarificarea identității diferiților membrii ai familiei autoanticorpilor anti-tiroidieni (6).

A fost avansată ipoteza că și oftalmopatia din boala Graves-Basedow are un substrat autoimunitar. Salvi și colab. – 1988 (79) au adus argumente majore care demonstrează că oftalmopatia și boala Graves-Basedow sunt asociate din cauza reactivității încrucișate a anticorpilor citotoxici anti-antigene tiroidiene cu țesutul orbitar, inducând astfel leziuni în ambele țesuturi. În serul pacienților cu oftalmopatie asociată cu boli autoimunitare tiroidiene au fost identificați: a) anticorpi citotoxici care reacționează și cu celule din mușchiul ocular; b) anticorpi anti-proteină de membrană cu GM 64 KDa, prezentă atât pe membranele celulelor tiroidiene cât și pe cele ale mușchilor oculari. Colectivul de autori, mai sus menționat, presupune că anomalia primară poate fi un anticorp citotoxic tiroidian care reacționează încrucișat cu un epitop de pe membrana celulelor din mușchiul ocular.

Controlul genetic al răspunsului imun în hipertiroidism în general și în boala Graves-Basedow în special, este susținut de mai multe argumente: a) agregare familială; b) frecvența mai mare la sexul feminin (7/1); prezența genelor limfocitelor B pe cromozomul X, ar putea motiva preponderența bolii la femei; c) apare la 30–60% din gemenii monozigoți, deși numai jumătate din pacienți au antecedente familiale pozitive (7) (16) (14).

Boala Graves-Basedow este asociată cu antigene ale complexului HLA situat pe brațele scurte ale cromozomului 6. Antigenul HLA-DRW3 este prezent la 60% dintre pacienții cu boală Graves-Basedow de rasă albă (caucaziană), față de numai 11–12% la populația de control (34) (73). Unele

studii au sugerat existența posibilității de a corela prezența acestui antigen cu anumite particularități clinico-biologice ale bolii Graves-Basedow: gravitate superioară, tendință la recidivă, rezistență la medicația antitiroidiană, frecvență crescută a anticorpilor antireceptori TSH (TRAb). La japonezi s-a raportat asocierea cu antigenul HLA-BW35, iar la chinezi cu antigenul HLA-BW46 (11). Asocierea cu antigene din clasa 1 HLA, nu este elucidată: a fost sugerată pentru că aceste antigene facilitează liza celulară. Inițial s-a crezut că HLA-B8 este asociat cu boala Graves-Basedow, dar s-a demonstrat că această asociere este aparentă, HLA-B8 având o puternică asociere cu HLA-DRW3 (42).

Acest tip de relație între antigenele HLA și boala Graves-Basedow este cel definit de linkage. Această relație este particularizată de modul de transmitere genetică a bolii Graves-Basedow în familiile în care se moștenește un anumit HLA. Concluzia, bazată pe studii familiale cu rude sau perechi mamă-copil care manifestă boala Graves-Basedow, sugerează existența haplotipurilor de susceptibilitate dar că nu există antigene HLA specifice cu care boala este asociată.

Majoritatea autorilor acceptă intervenția mecanismelor imune celulare în patogenia bolii Graves-Basedow. Studiile asupra numărului limfocitelor T și asupra funcțiilor lor în imunitatea mediată celular au fost grupate în: – analiza limfocitelor Ts nespecifice și – analiza funcțiilor supresoare ale limfocitelor T antigen-specifice (2). Deși datele obținute oferă prea puține certitudini, se afirmă că în boala Graves-Basedow scade atât numărul cât și calitatea limfocitelor T supresoare. Recent, s-a demonstrat că și celulele foliculilor tiroidieni, în anumite condiții (sub acțiunea interferonului), pot exprima clasa a 2-a de markeri HLA-DR și pot acționa ca celule de prezentare a antigenului direct limfocitelor T intratiroidiene, în prezența monocitelor (31) (36). Deci, receptorul limfocitelor T este dirijat contra epitopului „străin" (fragment de antigen) aflat pe suprafața celulei, doar dacă îl prezintă în combinație cu antigenul „propriu" HLA. Limfocitele T-citotoxice sau supresoare sunt activate de prezența unei celule anormale, în prezența macrofagelor și a limfocitelor T-helper.

Deși mecanismul inițial al inducerii activării limfocitelor T rămâne încă neelucidat, se susține că limfocitele T intratiroidiene active au proprietatea de a stimula limfocitele T circulante, iar producerea de gama-interferon induce expresia aberantă a HLA-DR pe tirocite. Aceasta stimulează, la rândul ei, activarea limfocitelor T intratiroidiene și periferice.

Fără a se putea demonstra în toate cazurile, se acceptă că unii factori mezologici pot induce boala Graves-Basedow la subiecți predispuși genetic. Scăderea producției de interleukină 2 în cursul stressurilor repetate ar putea afecta generarea de celule T imunoreglatoare, care sunt genetic parțial deficitare și astfel ar favoriza apariția bolii.

Boala Graves-Basedow se asociază frecvent cu alte imunopatii endocrine sau sistemice: tiroidita Hashimoto, diabetul zaharat insulinodependent, vitiligo, miastenia gravis, anemia Biermer, poliartrita reumatoidă, purpura trombocitopenică idiopatică, hepatita cronică activă ș.a. Modalitățile de reglare din cadrul sistemului imun, precum și numeroasele asocieri care sunt posibile între bolile imune, sugerează că spectrul de afectare este mai întins, fiind probabil generate de tendința la reechilibrare a unor clone de idiotipuri și antiidiotipuri inițial perturbate.

HIPOTIROIDISMUL PRIMAR AUTOIMUN

Este consecința unui proces de atrofie a glandei tiroide, fiind întâlnit mai frecvent la femei (raportul F/B = 4–7/1) între 40–60 ani, dar debutul poate fi constatat la orice vârstă, chiar și neonatal. Atrofia tiroidiană, este frecvent rezultatul unei tiroidite autoimune asimptomatice și poate să apară în contextul afectării mai multor glande endocrine.

Hipotiroidismul primar autoimun poate fi indus prin două mecanisme: a) blocarea receptorilor TSH; b) liza tirocitului. A fost demonstrată existența anticorpilor blocanți ai hormonogenezei (TSAb-block) la 15–20% din hipotiroidienii adulți, iar la cazurile cu mixedem atrofic (fără gușă) au fost identificați anticorpi antireceptor care blochează selectiv creșterea tiroidei (TGI-block: thyroid growth immunoglobulins block) (87). Formele neonatale cu anticorpi blocanți ai receptorului TSH par a evolua tranzitor, fiind consecința transferului transplacentar al IgG cu rol de TSI-block (thyroid stimulating immunoglobulins-block). Au mai fost identificați și anticorpi antireceptori de tipul TBII (thyroid binding inhibitori immunoglobulins) care împiedică legarea TSH-ului de propriul receptor, neputându-și astfel exercita efectul trofic asupra glandei tiroide (6). Sintetizând datele existente în literatura de specialitate, se poate conchide că în etiopatogenia hipotiroidismului primar autoimun negușogen se pot întâlni mai multe pattern-uri de anticorpi antireceptor TSH: TSAb-block; TBII; TSI-block; TGI-block.

În practica uzuală, anticorpii antitiroidieni sunt observați în 80% din cazuri. Anticorpii cu specificitate relativă recunoscută sunt cei antitiroglobulinici (AcTgl) care reacționează numai cu un epitop minor și doi epitopi majori ai antigenului, deși răspunsul anticorpilor este policlonal și de spectrotipuri diferite. AcTgl pot fi detectați prin tehnici de hemaglutinare sau

ELISA. Ultima metodă este extrem de sensibilă, putând decela anticorpi și la 25% din subiecții normali, fapt ce demonstrează că rețeaua imună controlează fiziologic și funcțiile endocrine (57).

Anticorpii antimicrozomali (AcMcz) sunt frecvent detectați în hipotirodisimul primar imun. Fac parte din clasele IgG, IgA, IgM, fixează complementul și sunt citotoxici pentru celulele tiroidiene în culturi, unde în interacțiune cu celulele „killer" produc liza celulară (64). Există o corelație semnificativă între prezența acestor anticorpi și infiltrația limfocitară tiroidiană, iar concordanța coexistenței lor cu anticorpii antiperoxidază, pledează pentru identitatea de acțiune a anticorpilor microzomali cu cei antiperoxidazici.

Hipotiroidismul primar imun se asociază cu alte afecțiuni imune: insuficiența corticosuprarenală primară (sindromul Schmidt), hipogonadismul, hipoparatiroidismul, angioscleroza pancreatică, miastenia gravis, boala Biermer, amiloidoza, sarcoidoza, poliartrita reumatoidă.

TIROIDITA CRONICĂ AUTOIMUNĂ (BOALA HASHIMOTO)

Are o incidență a formelor clinice și subclinice până la 1–4% din populație. Este întâlnită la toate vârstele, fiind mai frecventă la pubertate și climacterium. Femeile sunt afectate de peste 10 ori mai frecvent decât bărbații. Are caracter familial, apărând la mai mulți membrii ai aceleiași familii și la gemeni monozigoți (5) (87).

Asocierea tiroiditei Hashimoto cu boala Graves-Basedow, reprezintă un sindrom autoimun intricat cunoscut sub numele de Hashitoxicoză. Este frecventă asocierea cu alte boli autoimune: lupusul eritematos sistemic, hepatita cronică activă, dermatita herpetiformă, sclerodermia, vitiligo, diabetul zaharat, anemia Biermer. Tiroidita Hashimoto are o frecvență mai mare la indivizii cu antigene HLA-DR4 și DR5.

În tiroidita Hashimoto, este caracteristică prezența infiltratului limfocitar care distruge și înlocuiește treptat arhitectonica normală a glandei tiroide. Infiltratul conține pe lângă macrofage și celulele Askenasze cu granule acidofile. Formarea de centri germinativi, dă adeseori impresia transformării tiroidei într-un ganglion limfatic. Studii recente au demonstrat că infiltratul limfocitar din tiroidita Hashimoto, este constituit în principal din limfocite B și limfocite T de tip CD4 și CD8 citotoxice (6) (60).

GLANDELE PARATIROIDE

HIPOPARATIROIDISMUL PRIMAR AUTOIMUN

Hipoparatiroidismul include o gamă largă de manifestări clinice cauzate de hipocalcemie realizată fie prin absența sau deficitul secretor de hormon paratiroidian (PTH), fie prin lipsa de răspuns periferic la o secreție normală sau crescută de hormon (45) (49) (61).

Hipoparatiroidismul autoimun sau idiopatic este o formă etiopatogenică rară a bolii, fiind de obicei întâlnită în cadrul sindroamelor autoimune poliglandulare (1) (6).

Sunt menționate, următoarele argumente care pledează pentru patogenia autoimună a hipoparatiroidismului (4) (43): a) infiltrația limfocitară a paratiroidelor sau atrofia acestora și înlocuirea cu țesut adipos; b) prezența variabilă în ser a anticorpilor antiparatiroidieni, incidența acestora fiind de 38% față de 6% la grupul de control, subseturile de anticorpi anti-endotelin celular și antimitocondriali, au semnificație patogenică; c) deficitul „imunității celulare" exprimat prin reducerea sau absența hipersensibilizării limfocitelor T-la diverși stimuli sau numai la antigen candidiazic; d) deficitul limfocitelor T-supresoare; e) deficitul de IgA; f) asocierea cu alte boli (auto) imune (51): insuficiența corticosuprarenală cronică primară, moniliaza, insuficiența ovariană, anemia pernicioasă, alopecia, vitiligo, hipotiroidismul primar, tiroidita cronică. Mai recent a fost semnalată asocierea hipoparatiroidismului imun cu sindromul Kearns-Sayre (oftalmoplegia, degenerescența retiniană, miopatie, ataxie) și cu sindromul Kenny (hipotrofie staturală asociată cu surditate și alte anomalii ereditare) (10).

Moniliaza cutaneomucoasă cronică precede apariția simptomelor hipoparatiroidismului cu 10–20 ani, în schimb boala Addison apare câțiva ani mai târziu după debutul hipoparatiroidismului.

Insuficiența ovariană primară cu amenoree primară sau secundară, are debut postpuberal în 50% din cazuri. Ovarul are aspectul morfologic asemănător celui disgenetic.

Aproximativ 15% din bolnavii cu hipoparatiroidism imun, dezvoltă anemie pernicioasă de tip adult (atrofie gastrică cu prezența de anticorpi anticelulă parietală și antifactor intrinsec) și rareori de tip juvenil (deficit selectiv de factor intrinsec, fără anticorpi) afecțiunea se dezvoltă la 5–10 ani după instalarea hipoparatiroidismului.

Malabsorbția intestinală cu steatoree apare la 25% din cazurile cu hipoparatiroidism imun, mult mai frecvent decât în oricare altă formă etiologică a bolii.

Deși aspectele imunopatologice ale hipoparatiroidismului imun nu sunt pe deplin elucidate, Aurbach și colab. – 1992 (4) avansează ideea existenței unei predispoziții genetice care să explice apariția dezordinilor imunologice responsabile de secreția deficitară a hormonului paratiroidian.

PANCREASUL ENDOCRIN

DIABETUL ZAHARAT (HIPOINSULINISMUL)

Diabetul zaharat este o afecțiune endocrină cu o largă răspândire, fiind caracterizată fiziopatologic prin hipoinsulinism (scăderea secreției insulinice și/sau acțiunii la nivel de receptor), iar din punct de vedere biochimic prin tulburări ale metabolismului glucidic (hiperglicemie însoțită sau nu de glicozurie), lipidic (hipercolesterolemie, hipertrigliceridemie) și proteic, cu bilanț azotat negativ (66).

Studii recente (69) (85) sugerează că diabetul zaharat de tip I este o afecțiune generată prin mecanism imun.

Dintre informațiile imunologice care argumentează etiopatogenia autoimună a bolii, menționăm (85):

1. Predispoziția genetică: boala apare aproape în exclusivitate la subiecții cu HLA–DR3 și/sau HLA–DR4. Susceptibilitatea este în relație mai strânsă cu două alele ale lanțului beta (DQ, Asp-57-negativ), cu excepția homozigoților DR4/DR4 la care este importantă prezența aminoacidului din poziția 45.
2. Existența unui fenotip susceptibil este necesară dar nu și suficientă pentru apariția bolii.
3. Orice afectare a celulelor beta, realizată de către virusuri cu tropism betapancreatic sau substanțe beta-citotoxice, poate induce apariția unei insulite autoimune care determină liza progresivă a acestor celule.
4. Deși virusurile și substanțele beta-citotoxice au fost acceptate ca factori declanșatori ai diabetului zaharat autoimun uman, nu au fost stabilite asocieri clare etiologice care să explice patogenia pentru marea majoritate a cazurilor.

5. Alterarea selectivă a insulelor pancreasului progresează lent, iar diabetul zaharat devine clinic manifest, atunci când 90% din celulele beta au fost distruse; procesul autoimun este ilustrat prin prezenţa anticorpilor îndreptaţi împotriva diferitelor proteine atât din citoplasmă cât şi de pe suprafaţa celulelor beta, înainte cu mult timp de apariţia acestui stadiu.

6. Anticorpii sunt consideraţi mai degrabă markeri ai procesului distructiv, decât cauza lui.

7. În insulită sunt prezente macrofage, limfocite T-helper şi limfocite T-citotoxic/supresoare. Pentru apariţia bolii sunt necesare subseturile T-helper şi T-citotoxic supresoare. Se consideră că procesul distructiv este mai degrabă mediat celular decât prin anticorpi, iar celulele NK joacă un rol important.

8. IL-1 în concentraţii picomolare poate distruge celulele beta din insule izolate, dar nu şi celulele alfa şi delta. Efectele IL-1 sunt mult potenţate de TNF-alfa (tumor necrosis factor-alfa) şi prin stimularea activităţii secretorii a celulelor beta.

9. Celulele beta sunt cele mai sensibile din organism, la acţiunea substanţelor antioxidante. Scăderea acestor substanţe accelerează, iar suplimentarea lor, reduce rata de distrugere a celulelor beta în diabetul zaharat experimental.

Mecanismele care „rup" toleranţa imunologică nu sunt încă pe deplin elucidate, dar conform reţelei imune ele reclamă modificări în echilibrul dinamic dintre liganzii imuni, între ei, şi liganzii imuni în relaţie cu antigenul self complementar.

Faptul că nu s-a putut imprima constant un agent (viral, citotoxic) ca factor comun cauzal al diabetului zaharat autoimun a motivat avansarea ipotezei de lucru prin care se atribuie un rol patogenic major citokinelor care apar frecvent în cadrul reactivităţii imune, atât la nivelul etapei de aferenţă cât şi de reglare (40).

Cercetările efectuate de Nerup şi colab. – 1988 (69) şi Molvig şi colab. – 1988 (67) au demonstrat că interleukina-1 (IL-1) este cel mai puternic şi selectiv factor endogen beta-citotoxic, a cărei toxicitate este mult amplificată de TNF alfa. Aceste substanţe sunt secretate de macrofagele care se găsesc permanent în vecinătatea insulelor Langerhans, ca şi în alte ţesuturi. Activitatea moleculei de TNF-alfa este de 10 ori mai mare ca cea a IL-1. S-a demonstrat că atât TNF cât şi IL-1 sunt controlate de către gena situată pe cromozomul 6 în apropierea regiunii MHC (69). Secreţia IL-1 şi TNF de către macrofage, necesită însă activarea limfocitelor-T-helper prin interferonul-gama (IFN-gama). Producţia poate fi limitată la un singur ţesut, dar în condiţii stressante (infecţii virale sau bacteriene, traumatisme ş.a.) IL-1 şi TNF-alfa pot creşte în circulaţia sistemică. La persoanele cu genotip normal,

celulele beta pot fi distruse prin creșteri tranzitorii repetate ale acestor beta-citotoxine, dar nu se declanșează răspuns autoimun, iar celulele distruse sunt rapid înlocuite prin capacitatea compensatorie a insulelor Langerhans. La persoanele susceptibile, aceste episoade multiple de deteriorare relativ minoră a celulelor beta, inițiază un răspuns autoimun care determină liza progresivă a celulelor beta la o rată care depășește posibilitatea de înlocuire.

Această teorie a implicării aberante a moleculelor clasei a II-a MHC, a fost analizată de Bottazzo și colab. – 1985 (29) în două moduri: a) în cercetări statistico-epidemiologice a prevalenței anumitor haplotipuri în diabet față de populația nondiabetică, fapt ce a constribuit la definirea fenomenului de susceptibilitate la boală și la relația de risc relativ; b) *in vitro,* s-a demonstrat că moleculele MHC de clasa II-a pot fi exprimate la nivelul membranelor plasmatice ale celulelor insulare, fapt ce sugerează posibilitatea prezentării antigenice de către celulele epiteliale betainsulare către celulele reglatoare implicate în boală.

Predispoziția genetică pentru diabet ar consta din moștenirea unui tip de reacție imunologică la celulele beta mai mult sau mai puțin alterate (viral sau toxic), urmată apoi de distrugerea lor rapidă. O hiperactivitate a celulelor beta, exprimând o vulnerabilitate la agenții externi, a putut fi evidențiată la rudele nediabetice având un haplotip HLA similar cu diabeticii de tip I (74).

Participarea HLA în mecanismul patogenic diabetogen este susținută cu următoarele argumente de ordin imunogenetic: a) antigenele HLA se aseamănă ca structură cu agenții virali; b) antigenele HLA pot acționa ca receptori pentru unele virusuri sau hormoni; c) unele antigene HLA sunt în dezechilibru de legătură cu o serie de gene implicate în răspunsul imun.

În diabetul zaharat au fost descriși antagoniștii imunologici reprezentați prin anticorpi antiinsulinici și anticorpi antireceptori insulinici.

Anticorpii antiinsulinici au fost identificați mai frecvent, la pacienții tratați anterior cu insulină, fiind imunoglobuline de tip IgG și IgA care prin interacțiunea cu moleculele de insulină determină apariția complexelor imune de tip idiotip – antiidiotip. Disocierea în anumite momente a acestor complexe, eliberează insulina liberă cu activitate normală, determinând hipoglicemii severe.

Anticorpii antiinsulinici pot să apară spontan și la subiecți nondiabetici care prezintă gamapatie monoclonală sau o endocrinopatie imună (în special tiroidiană).

Anticorpi antireceptori insulină au fost detectați, extrem de rar, la pacienți cu acanthosis nigricans și insulinorezistență (67 bis). Apariția în concentrații mari a unor astfel de autoanticorpi a fost pusă pe seama unor posibile anomalii în biostructura receptorului insulinei, la nivelul subunității beta, sau a ambelor (alfa și beta) (67 bis).

Diabetul zaharat tip I poate fi asociat cu alte afecțiuni imune cum ar fi tiroidita Hashimoto, insuficiența corticosuprarenală primară, anemia Biermer, miastenia gravis, vitiligo ș.a.

GLANDELE SUPRARENALE

INSUFICIENȚA CORTICOSUPRARENALĂ CRONICĂ PRIMARĂ

Insuficiența corticosuprarenală cronică primară de cauză autoimună, era denumită în trecut idiopatică sau atrofie suprarenală primitivă.

În SUA, cauza preponderentă a insuficienței corticosuprarenale cronice primare este atrofia autoimună (80% din cazuri) iar tuberculoza adrenală reprezintă doar aproximativ 15–20% din cazuri (6).

Prezența anticorpilor anti-celule corticosuprarenale a fost inițial demonstrată prin metoda de fixare a complementului. Un tablou clinic și histopatologic asemănător bolii umane a fost reprodus experimental, prin imunizarea animalelor cu cortex suprarenal omolog sau heterolog, înglobat în adjuvant Freund. S-a remarcat apariția în serul animalelor, de anticorpi antisuprarenală. De asemenea, s-a demonstrat că boala poate fi transferată și pasiv prin celule limfoide (25).

În insuficiența corticosuprarenală cronică primară autoimună, anticorpii anti-corticosuprarenali se întâlnesc în 67–72% din cazuri, pe când în suprarenalita tuberculoasă, incidența acestor anticorpi este joasă, comparabilă cu cea din grupele de control (70). Această observație sugerează că anticorpii nu apar ca o consecință a oricărei suferințe suprarenale.

Pe de altă parte, s-a observat că autoanticorpii sunt, în special îndreptați împotriva celulelor din zona fasciculată a corticosuprarenalei și nu reacționează niciodată cu celulele din medulara glandei (77). Antigenele suprarenalei (două mai bine studiate) sunt lipoproteine asociate cu hidrați de carbon, fiind prezentate în fracțiunea microsomială. Proprietățile lor sunt asemănătoare cu ale antigenelor organospecifice tiroidiene și cu ale celulelor parietale gastrice, dar diferă de acestea (și între ele) prin susceptibilitatea lor la unele distrucții prin enzime proteolitice (alfa-chemo-tripsină) sau la diferite

tratamente chimice. Autoanticorpii anti-celule corticosuprarenale sunt dominant de tip IgG (37).

Deși nu s-a putut stabili cu certitudine mecanismul patogenic implicat în această afecțiune s-a avansat ideea că atât limfocitele T sensibilizate cât și autoanticorpii identificați în serul acestor bolnavi, ar produce leziunile glandei (33) (41) (58) (86). Alți autori susțin că autoanticorpii ar induce mai degrabă o inactivare hormonală prin blocarea acțiunii ACTH (90).

Studiile clinice au evidențiat o tendință crescută de asociere a insuficienței corticosuprarenale cronice primare „idiopatice" cu alte boli autoimune: tiroidita limfocitară, anemia pernicioasă, diabetul zaharat, vitiligo, insuficiența gonadică primară, gastrita atrofică, alopecia și hipoparatiroidismul (59) (84). În cazul insuficienței corticosuprarenale cronice primare de cauză tuberculoasă sau de altă etiologie, aceste asocieri nu se întâlnesc cu o frecvență mai mare decât cea atribuită hazardului (6) (17).

Asocierea insuficienței corticosuprarenale cronice primare cu hipotiroidismul primar, induse prin același mecanism autoimun, este cunoscută în literatura de specialitate sub denumirea de Sindrom Schmidt. În acest sindrom, ambele glande prezintă o puternică infiltrație limfocitară, cu atrofia celulelor mobile și fibroză, caracteristic afecțiunilor autoimune (58). Foarte frecvent, insuficiența corticosuprarenală este manifestă pe când hipotiroidismul este subclinic. Bolnavii prezintă și anticorpi antitiroidieni, iar nivelul TSH-ului este crescut, fapt ce pledează pentru deficitul tiroidian primar.

Insuficiența ovariană primară este o altă asociere în care amenoreea primară sau secundară survine la 25% din cazuri iar sterilitatea este și mai frecventă. La addisonienii cu insuficiență gonadică precoce, au fost identificați anticorpi ce reacționează cu celulele secretoare de hormoni steroizi din corticosuprarenală, ovar, testicul și placentă, sugerând un proces de autoimunizare față de antigene comune glandelor secretante de steroizi (6). Evidențierea acestor autoanticorpi se face cel mai bine cu ajutorul imunofluorescenței indirecte (39).

Insuficiența corticosuprarenală cronică primară se asociază relativ frecvent cu hipoparatiroidismul autoimun, al cărui tablou clinic se conturează precoce, adesea prepubertar (79).

Asocierea cu anemia pernicioasă este confirmată prin prezența anticorpilor antifactor intrinsec la 9–10% din pacienții cu insuficiență corticosuprarenală cronică primară autoimună, la care se asociază și deficitul secreției de acid clorhidric (41) (59).

Studiile privind imunoreactivitatea celulară în insuficiența corticosuprarenală cronică primară autoimună relevă scăderea proporției limfocitelor T-totale în sângele periferic, iar testul inhibiției migrării leucocitelor față de extractul suprarenal este pozitiv (19).

În deficitul familial de glucocorticoizi caracterizat prin neresponsivitate ereditară la ACTH, în care secreția de glucocorticoizi și de sexoizi este redusă

şi cea de ACTH crescută, zona glomerulară nu este afectată şi în consecinţă se produc descărcări normale de aldosteron la modificări de postură şi la deprivarea de sodiu, în schimb în zonele fasciculată şi reticulată există modificări degenerative (58). S-a constatat că boala Addison autoimună apare la persoanele cu o predispoziţie genetică pentru această afecţiune.

În relaţie cu unele antigene ale sistemului HLA, sunt considerate ca persoane cu risc crescut pentru această afecţiune, cele care prezintă HLA-DR3 (77).

În boala Addison autoimună, glandele suprarenale sunt mici, atrofice, cu capsula îngroşată, corticală infiltrată cu limfocite iar medulara este neafectată. Boala devine evidentă când peste 90% din ţesutul funcţional corticosuprarenal este exclus. Evoluţia este lentă şi progresivă, iar în absenţa măsurilor terapeutice poate duce la exitus.

Tratamentul imuno-supresor nu şi-a găsit aplicaţia în insuficienţa corticosuprarenală cronică primară autoimună (deşi există suficiente dovezi asupra etiologiei sale), datorită eficienţei terapiei substituitive şi faptului că în momentul diagnosticului leziunile sunt deja avansate şi cu potenţial de reversibilitate redus.

OVARUL

INSUFICIENŢA OVARIANĂ PREMATURĂ

Este semnalată la femei tinere, sub vârsta de 40 de ani, şi se caracterizează prin suspendarea definitivă a menstrelor spontane.

Trăsăturile definitorii ale insuficienţei ovariene premature sau menopauzei premature sunt: amenoreea secundară, titrul foarte ridicat al gonadotropilor şi răspunsul negativ la proba de stimulare cu gonadotropi.

S-a ajuns la concluzia că insuficienţa ovariană prematură are cauze multiple care pot afecta activitatea ovarului în orice etapă, înainte de vârsta fiziologică a menopauzei: foliculii ovarieni pot suferi o atrezie masivă înainte de maturarea sexuală la pubertate; dispariţia ovocitelor poate avea loc în perioada pubertară sau după un interval de 2–5 ani după încheierea pubertăţii (6) (8) (53). Aceste posibilităţi evolutive ale echipamentului folicular, realizează tot atâtea forme clinice ale insuficienţei ovariene premature.

Insuficienţa ovariană prematură poate exista şi izolat, dar se şi asociază cu alte afecţiuni autoimune cum ar fi insuficienţa corticosuprarenală cronică primară, hipoparatiroidismul, tiroidita, candidioza mucocutanată (17).

Originea (auto)imună a insuficienței ovariene premature a fost confirmată prin studii de imunofluorescență în țesutul ovarian care au evidențiat prezența autoanticorpilor anti-celulă granuloasă și anti-tecală. Autoanticorpii anti-gonadă apar mult mai frecvent la pacientele care asociază și alte boli autoimune (1) (35). Recent s-a demonstrat prezența de forme imunoreactive urinare de FSH și LH. La bolnavele cu insuficiență ovariană prematură a fost detectată prezența markerilor HLA-B8 și DR3, care sugerează susceptibilitatea genetică de a dezvolta afecțiuni imune. De asemenea, a fost evidențiat deficitul limfocitelor Ts și creșterea proporției limfocitelor T activate circulante (76).

Tratamentul insuficienței ovariene premature imune, vizează utilizarea glucocorticoizilor (tratament patogenic) și/sau plasmafereza. Fertilitatea fiind compromisă, este indicată terapia de substituție estro-progestativă.

TESTICULUL

ORHITA AUTOIMUNĂ

În ultimii ani, s-a conturat concepția autoimunizării conform căreia individul poate dezvolta anticorpi antitesticulari (82). Au fost identificate leziuni inflamatorii sub forma unui infiltrat celular perivascular în epididium, cu extensie în testicul, care duc în timp la distrugerea tubilor seminiferi și a celulelor germinale (9).

Leziuni inflamatorii cu infiltrat de celule mononucleare (macrofage și limfocite) s-au putut obține prin imunizarea animalelor de experiență cu țesut testicular infectat în adjuvant Freund complet. Deși modelele experimentale de producere a bolilor autoimune în care apar anticorpi organospecifici și/sau limfocite T reactive față de antigenele tisulare proprii ar sugera ideea că ruperea toleranței imunologice s-ar produce printr-un eveniment biologic mai mult sau mai puțin unic, totuși analiza etiopatogeniei orhitei autoimune arată că boala are un determinism multifactorial, fiind implicate mai multe mecanisme etiopatogenice: factori genetici, tulburări ale celulelor Ts, iar leziunile sunt determinate de depozitele de complexe imune la nivelul vaselor (82). S-a avansat ideea că există o relație între orhita autoimună și granulomul spermatic, susținându-se că fracțiunile lipidice provenite din dezagregarea unor granuloame spermatice ar determina o reacție de tip antigen-anticorp în tubii seminiferi cu aspect de leziune granulomatoasă (77) (88). Această

leziune ar fi un răspuns imunologic atât faţă de lipidele acide produse prin degenerarea spermatozoizilor, cât şi la schimbarea pH-ului tisular, consecutiv a acestui fapt.

Prin metode histochimice au fost evidenţiate pe secţiunile de orhită granulomatoasă, fracţiunile lipidice în resturile de spermatozoizi fagocitate de macrofagele din leziune. Aceste elemente par a explică aspectul granulomatos al leziunii. Alţi autori-pledează pentru originea ischemică a modificărilor morfo-patologice din orhita granulomatoasă, dar modelele experimentale utilizate nu au indus decât leziuni specifice infarctizării (6).

Originea inflamatorie a leziunilor a fost şi ea implicată, dar pentru că tratamentul cu antibiotice nu a avut rezultatele scontate, s-a emis ipoteza că orhita granulomatoasă ar reprezenta doar o fază lezională reziduală a unui proces inflamator (37). Orhita granulomatoasă a fost descrisă la pacienţi a căror vârstă era între 26–72 ani. Instalarea leziunilor se poate face în 2–3 săptămâni, sau insidios, în cursul câtorva ani. Testiculul afectat este iniţial hipertrofiat, cu suprafaţa nodulară, iar pe secţiune are o culoare galben-roşiatică, cu zone de necroză şi hemoragie. Cordonul spermatic şi epididimul pot fi şi ele implicate.

Examenul microrscopic evidenţiază la început leziuni în tubii seminiferi, localizate în celulele epiteliului germinal care se hipertrofiază, au citoplasma eozinofilică şi vacuolară iar nucleii devin veziculoşi, membrana bazală este infiltrată de leucocite neutrofile, celule epiteloide şi gigante. Interstiţiul este de asemenea modificat prin invazia în grade variate de limfocite, plasmocite şi celule gigante. Celulele Leydig sunt decelabile în fazele iniţiale ale leziunii. În stadiile mai avansate, membrana bazală este complet distrusă, iar celulele cu granulaţii eozinofilice invadează difuz interstiţiul.

Alţi autori, susţin că leziunea apare în interstiţiul gonadei fie cu caracter de proces net granulomatos, fie constituit numai dintr-un infiltrat limfoplasmocitar. Leziunea se extinde ulterior în tubii seminiferi a căror membrană bazală este infiltrată, iar epiteliul tubular suferă intense modificări distrofice şi degenerative. În fazele finale, tubii seminiferi pot fi complet înlocuiţi de procesul granulomatos sau se hialinizează (9) (12).

STERILITATEA MASCULINĂ IMUNOLOGICĂ

Fenomenele autoimune interesând spermatozoizii, aduc în actualitate aspecte importante privind etiologia infertilităţii. S-a constatat că auto- sau hetero- imunizarea faţă de antigenele spermatice poate genera o infertilitate relativă fie la bărbat, fie la femeie (infertilitatea cuplului).

Spermatozoizii umani au o dublă antigenitate: una proprie de origine testiculară și alta preluată din antigenele plasmatice cu care vin în contact.

Nu se cunoaște cu precizie, în ce fază a gametogenezei, spermatozoizii dobândesc proprietăți antigenice. Studii experimentale au sugerat că spermatozoizii devin structuri antigenice din faza de spermatocit de ordinul II când au garnitură cromozomială haploidă și intră în diviziune ecvațională din care rezultă spermatidele cu citoplasmă slab bazofilă, mitocondrii numeroase, aparat Golgi, doi centrioli și reticul endoplasmatic neted (44). Ulterior, din faza de spermatidă și până la ejaculare, spermatozoizii își amplifică proprietățile antigenice. Creșterea puterii antigenice a spermatozoizilor este explicată prin transformările biochimice ce se produc la nivelul celulelor sexuale, ca urmare a convertirii nucleohistonei în protamină. Majoritatea autorilor aduc numeroase argumente care demonstrează că, în urma contactelor cu secrețiile glandelor anexe, spermatozoizii asimilează la suprafața lor un înveliș antigenic denumit spermatozoa-coating-antigen sau SCA (48).

Au fost izolate peste 16 tipuri de antigene spermatice, din care 7 atribuite spermatozoizilor și 4 secretate de prostată. Se apreciază că cea mai mare parte a antigenelor este concentrată la nivelul acrozomului spermatozoidului, unde de altfel se găsește și sursa principală de hialuronidază. Au fost aduse dovezi privind caracterul de antigenitate specifică speciei pentru această enzimă. Se consideră că sunt antigenice și sorbitdehidrogenazele din celulele germinale diferențiate. Dintre antigenele spermatice bine caracterizate în prezent, mai menționăm LDH-X (o izoenzimă LDH) și antigenul H-Y codificat ca antigen specific masculin de către o genă situată pe cromozomul Y, ce are un rol central în procesul diferențierii sexuale primare (78).

Plasma seminală conține o mare varietate de substanțe cu o pronunțată activitate antigenică, provenite din glandele anexe ale aparatului genital și în special din veziculele seminale (30) (83). Deși se cunosc încă foarte puține date despre originea, proporția și distribuția antigenelor în plasma seminală, totuși cercetările imunochimice efectuate în ultimii ani au evidențiat antigene cu o pronunțată activitate esterazică, precum și substanțe care au proprietatea de a sensibiliza spermatozoizii ampulari față de șocul termic în momentul ejaculării sau imediat după aceasta. Au mai fost identificate și alte substanțe care pot intercepta sistemele reglatoare imune, cum ar fi transferina, prostaglandinele și zincul (44).

În anumite situații, spermatozoizii determină apariția anticorpilor fie în organismul în care sunt produși – autoanticorpi antispermatici sau izoanticorpi –, fie în organul femeii în care sunt depuși – heteroanticorpi antispermatici. Spermatozoizii fac parte din categoria constituenților organismului care devin autoantigene în starea lor nativă, nealterată, numai prin simpla modificare a stării lor fiziologice de antigene sechestrate (77).

Examenul anumitor parametri morfologici și funcționali la bărbații cu sterilitate, a permis observarea în produsul de ejaculare, a unui număr impor-

tant de spermatozoizi imobilizaţi şi aglutinaţi, ceea ce a dus la cercetarea prezenţei spermaglutininelor care au fost evidenţiate la titruri variabile, atât în serul cât şi în plasma seminală a bărbaţilor sterili.

Anticorpii antispermatici sunt de tipul imobilizinelor şi aglutininelor. Sunt menţionate mai multe forme de aglutinări: cap-cap, col-col, coadă-coadă, cap-col etc. S-a constatat că anticorpii aglutinaţi responsabili de aglutinarea col-col sunt induşi de substanţe de tip polizaharidic. Cercetările efectuate de noi, au evidenţiat o creştere a titrului anticorpilor anti-ADN-denaturat la toţi bărbaţii cu azospermie şi oligospermie (15). Titruri serice crescute de anticorpi antispermatici au fost constatate la bărbaţii homosexuali. Tipul acestor anticorpi diferă de cel al anticorpilor antispermatici existenţi în serul indivizilor ce întreţin relaţii heterosexuale, proveniţi din cupluri infertile. În timp ce la aceştia din urmă predomină anticorpi IgG, şi, în mai mică măsură IgA orientaţi împotriva structurilor antigenice ale cozii, la homosexuali sunt prezenţi mai frecvent anticorpi IgM orientaţi împotriva structurilor capului (77).

Pentru a determina dacă imobilizinele antispermatice evidenţiate în serul femeilor sunt orientate împotriva fragmentelor peptidice sau hidrocarbonate ale antigenelor spermatice, produsul de ejaculare a fost tratat cu acid periodic, care denaturează carbohidraţii. La unele cazuri a scăzut capacitatea anticorpilor de a imobiliza spermatozoizii, ceea ce sugerează rolul antigenelor cu structură hidrocarbonată. Structurile antigenice proteice sunt de asemenea implicate, fapt care ilustrează natura complexă a ţintelor moleculare ale anticorpilor antispermatici (77).

În antecedentele personale patologice ale bărbaţilor cu autospermaglutinine pozitive, au fost decelate boli infecţioase, intervenţii chirurgicale sau traumatisme accidentale în sfera genitală. Aproximativ jumătate dintre pacienţi cu autospermaglutinine pozitive, prezentau anomalii ale epidimului sau ale canalelor deferente, cu semne de obstrucţie uni- sau bilaterală. Obstrucţia canalelor deferente duce la spermostază şi la extravazarea spermei în epididim. Prezenţa spermei în ţesutul interstiţial al epididimului atrage infiltraţia cu macrofage, limfocite şi plasmocite, iar anticorpii ar pregăti spermatozoizii pentru fagocitoză. Ipoteza extravazării lichidului seminal implică în mod necesar un proces anatomic evidenţiabil, pentru ca antigenul – spermatozoidul normal – să piardă localizarea sa fiziologică şi să incite proliferarea clonelor cu rol specific. Studii experimentale au permis identificarea aglutininelor faţă de spermatozoizi când s-a practicat ligatura canalelor deferente, iar după înlăturarea acesteia, la o parte din animale, titrul a revenit la normal (24). Cu toate acestea, absenţa trecutului de leziune şi biopsia normală la foarte mulţi bolnavi, pledează şi pentru posibilitatea unei predispoziţii faţă de un răspuns imunologic în domeniul etiopatogeniei sterilităţii masculine prin autoanticorpi. Astfel, la unele specii au fost identificate alelele implicate în determinismul genetic al proteinelor din plasma seminală (7).

S-au descris în lichidul spermatic numai urme de gamaglobuline şi, cu toate acestea, uneori, titrurile aglutininelor sunt similare celor din serul

bolnavilor. Se afirmă cu probabilitate că anticorpii din plasma seminală sunt produși în nodulii limfatici regionali sau în celulele plasmatice din infiltratul limfoplasmocitar (11).

Este unanim admis că sterilitatea masculină imunologică apare ca o rezultantă a acțiunii discrete a autoanticorpilor asupra spermatozoizilor și ca urmare, în timp, se instalează azoospermia prin autoimunizare, iar boala îmbracă caracterul unei afecțiuni autoimune. Alteori, apar heteroaglutininele, fie ca urmare a pătrunderii antigenului spermatic printr-o soluție de continuitate în sângele partenerei sau a incompatibilității dintre spermatozoizi și mucusul cervical care conține anticorpi. Anticorpii izolați în glera cervicală, produc aglutinarea spermatozoizilor cu pierderea motilității și capacității lor fecundante, deși examenul spermei este inițial normal (30).

De asemenea, s-a putut constata că atât plasma seminală cât și testiculul conțin antigene comune cu ale altor organe (ficat, splină, rinichi etc.). În această accepțiune, s-a sugerat posibilitatea apariției anticorpilor antispermatici în contextul unei afecțiuni imunologice la nivelul altor organe, prin existența similitudinii antigenice.

POLIENDOCRINOPATIA IMUNĂ

Sindroamele poliglandulare asociază multiple disfuncții endocrine de origine autoimună, apărute la un individ cu susceptibilitate genetică. Sunt numeroase cazurile în care mai multe celule/glande endocrine sunt afectate concomitent sau la intervale de timp apropiate. Poliendocrinopatia se asociază frecvent cu alte boli imune. S-au descris trei tipuri de poliendocrinopatii imune:

A. Tipul I de poliendocrinopatie imună, ce apare în copilărie, de obicei înaintea vârstei de 10 ani, cu o ușoară predominanță pentru sexul feminin. La mai mult de 70% din cazuri se asociază candidoza cu hipoparatiroidismul, iar la 40–70% dintre acești pacienți este prezentă și insuficiența corticosuprarenală cronică primară sau insuficiența gonadală. Poliendocrinopatia de tipul I se mai poate asocia cu: hepatita cronică activă (10–15% din cazuri), alopecia areată, anemia Biermer. Deși patogenia nu este elucidată, prezența infecției micotice sugerează existența unui deficit al imunității celulare. În serul pacienților se găsesc anticorpi antiorgan afectat. Poliendocrinopatia de tip I poate apare sporadic, dar în mod obișnuit are o agregare familială cu transmiterea autosomal recesivă (1). Nu a fost asociată cu un anumit haplotip.

B. Poliendocrinopatia imună tip II se exprimă clinic la vârsta de 20–30 ani, mai frecvent la sexul feminin (raportul femei/bărbați: 2/1). Este o afecțiune rară ce se caracterizează prin asocierea dintre insuficiența corticosuprarenală primară cu diabetul zaharat tip I și/sau boli tiroidiene. La un număr mic de cazuri se mai întâlnesc: insuficiența gonadică, vitiligo și alte boli autoimune nonendocrine (32). Jumătate din cazurile cu poliendocrinopatie tip II au agregare familială, dar modul de transmitere este necunoscut (6). S-a observat că prezența HLA-DR3 și HLA-B8 este corelată cu un risc relativ crescut pentru acest tip de poliendocrinopatie.

C. Poliendocrinopatia imună tip III este cea mai frecventă și asociază o afecțiune tiroidiană autoimună cu o altă boală autoimună, cu excepția insuficienței corticosuprarenale cronice primare. Dintre entitățile clinice asociate în cadrul acestui tip de poliendocrinopatie, se detașază prin frecvența lor: diabetul zaharat cu bolile autoimune tiroidiene; afecțiuni autoimune gastrice cu boli tiroidiene autoimune sau alte boli autoimune (miastenia gravis) cu patologie autoimună tiroidiană.

Acest tip de poliendocrinopatie imună este mai frecvent la femei (raport femei: bărbați = 7:1) și se asociază cu HLA-DR3.

Abordarea interrelațiilor dintre sistemele informaționale imun și cel endocrin, orientează gândirea practicianului și spre aceste mecanisme etiopatogenice ale bolilor endocrine.

Privite din această perspectivă, concepțiile actuale din imunopatologia endocrină, oferă o certă posibilitate în terapia acestor afecțiuni.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. AHONEN P., SINIKKA M., SIPILA I. – *Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APCED) in a series of 68 patients.* N. Engl. J. Med., 1990, 322, 1829–1836.
2. AMMANN A.J. – *Antibody (B cell) immunodeficiency disorders.* In „Basic and clinical immunology" (sub red. Stites D.P. Terr A.I.), Appleton and Lange, Norwalk Conn, 1991, 322–361.
3. ASA S.L., BILBAO J., KOVACS K. – *Lymphocytic hypophysitis of pregnancy resulting in hypopituitarism. A distinct clinicopathologic entity.* Ann. Intern. Med. 1981, 95, 166.
4. AURBACH D.G., MARX J.S., SPIEGEL M.A. – *Parathyroid hormone, calcitonin and the calciferols.* In: „Williams textbook of endocrinology" (sub red. Wilson D.J., Foster W.D) W.B. Sauders Co., Philadelphia, 1992, 1397–14767.
5. BAKER R.J. – *Seronegative Hashimoto thyroiditis with thyroid autoantibody production localized to the thyroid.* Ann. Intern. Med. 1988, 108, 26.
6. BAKER R.J. – Endocrine diseases. In „Basic and clinical immunology" (sub red. Stites D.P., Terr I.A.), Appleton and Lange, Norwalk Conn, 1991, 464–475.
7. BATCHELOR R.J. – *Genetic rol in autoimmunity.* Triagle, 1984, 23, 3/4, 77–83.
8. BADARAU LIGIA, NEGURA A., MIHAILESCU A. – *Probleme de ginecologie funcțională.* Edit. Academiei Române, București, 1985, 254–255.

9. BELCHETZ E.P. – *The testis.* In „Clinical endocrinology” (sub. red. Besser G.M., Cudworth A.G.), Chapman and Hall Medical, London, 1988, 1017–1018.
10. BERGADA I., SCHIFFRIN A., ABU S.H. – *Kenny syndrome: description of additional abnormalities and molecular studies.* Hum. Genet. 1988, 80, 39–42.
11. BESSER M.G., GUDWORTH G.A. – *Clinical endocrinology* Chapman Hall Medical, London, 1988, 1010–1015.
12. BISTRICEANU M. – *Testiculul.* În: „Fiziologia și fiziopatologia sistemului endocrin” (sub. red. I. Teodorescu-Exarcu), Edit. Medicală, București, 1989, 934–982.
13. BISTRICEANU M. – *Markeri imuno-genetici in hipertirodism.* al X-lea Simp. Endocrinologie Clinică, Iași, 1993, 12.
14. BISTRICEANU M., CERGA ARETA, LICHIARDOPOL CORINA – *Graves' ophtalmopathy.* Oftlmologia, București, 1993, vol. 37, nr. 2, 99–103.
15. BISTRICEANU M. DUMITRIU I., BISTRICEANU IOANA – *Studiul anticorpilor anti-ADN în infecunditatea masculină.* A XV-a Conf. Naț. Imunologie, Iași, 1986, 98.
16. BISTRICEANU M. MAXIMILIAN C. – *Controlul genetic al răspunsului imun în hipertiroidism.* Simp. Naț. Endocrinologie, Craiova, 1991, 4–6.
17. BISTRICEANU M., PERETIANU D., GRIGORIE D., VOICULESCU C.– *Imunopatologia sistemului endocrin.* Edit. Oltenia, Craiova, 1993, 111–149.
18. BISTRICEANU M. ROȘCA TR., DUMITRIU I., BISTRICEANU IOANA, VOINEA F., BURDESCU C – *Investigation of thermic transition and renaturation of high polymerized DNA extracted from thyroid nodule.* Endocrinology, București, 1985, 23, 2, 115–119.
19. BISTRICEANU M., VOICULESCU C., VOINEA F., STANCIU LUCIA, DRAGOTA ANA MARIA, BISTRICEANU IOANA – *Studiul imunoreactivității celulare în insuficiența corticosuprarenală cronică primară.* A XIV-a Conf. Naț. Imunologie, Cluj-Napoca, 1985, 101–102.
20. BISTRICEANU M., VOICULESCU C., STANCIU ROSU LUCIA, DRAGOTA ANA MARIA, BISTRICEANU IOANA – *Investigation of cell immunoreactivity in Graves-Basedow disease.* Analele Univ. Craiova, 1986, vol. XI, 111–115.
21. BISTRICEANU M., VOICULESCU C., DRAGOTA ANA MARIA, STANCIU ROSU LUCIA, BISTRICEANU IOANA., MARIAN I., GHITULESCU DOINA – *Studiul limfocitelor T sub terapia cu litiu în hipertiroidism.* Analele Univ. Craiova, 1989, vol. XV, 95–99.
22. BISTRICEANU M., VOICULESCU C., STANCIU ROSU LUCIA, FNEICHE M., GHELASE F., CERGA ARETA, BISTRICEANU IOANA – *The in-vitro effects of human alpha-interpheron on the systemic macrophage interleukin-1 production in cases of hyperthyroidism.* 6-th Balkan Congresse of Endocrinology, Thesaloniki, 1989, 21.
23. BISTRICEANU M. VOICULESCU C., STANCIU ROSU LUCIA, GHELASE F., CALOTA F., POPA CRISTINA, BISTRICEANU IOANA LICHIARDOPOL CORINA, FNEICHE M., CUTUI M. – *Studies on interleukin-1 and fibronectin in hyperthyroidism.* V-e Congres de l'Entente Medicale Méditeranéenne, Constanța, 1992, 250.
24. BOGDAN A., BISTRICEANU M., MAJINA C. – *Reproducția animalelor de fermă.* Edit. Scrisul Românesc, Craiova, 1981, 631–634.
25. BONDY P.K. – *Disorders of the adrenal cortex.* In: „Williams textbook of endocrinology” (sub red. Wilson J.D., Foster D.W.) W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1985, 816–890.
26. BOTTAZZO G.F. – *Organ-specific autoimunity.* Immunol. Rev. 1986, 94, 137.
27. BOTTAZZO G.F., DONIACH D. – *Autoimuns thyroid disease.* An. Rev., Med., 1986, 37, 353.
28. BOTTAZZO G.F., DONIACH D. – *Pituitary autoimunity:* a review. J.R. Soc. Med. 1978, 71, 433–436.
29. BOTTAZZO G.F., DEAN B.M., McNALLY J.M. – *In situ characterization of autoimmune phenomena and expression of HLA molecules in the pancreas in diabetic insulitis.* N. Engl. J. Med. 1985, 313, 353–360.

30. BRAUNSTEIN D.G. – *The testes.* In „Basis and clinical immunology" sub red. Greenspan S.F., Forsham H.P.), Lange, Med. Publ., Los Altos, California 1985, 377.
31. BROWN W.E. – *The HLA histocompatibility system in autoimune states.* Clin. Lab. Med. 1988, 8, 351–372.
32. BROWN F.M., FREEEMAN R., TYLER H.R. – *Polyglandular autoimunity and Parkinson's disease.* Clin. Res. 1989, 37, 356.
33. BURKE C.W. – *Adrenocortical insufficiency.* Clin. Endocrinol. Metab., 1985, 14, 947–976.
34. BURMAN K.D., BAKER J.R. – *Immune mechanism in Grave's disease.* Endocr. Rev. 1985, 6, 183.
35. CARR B.R. – *Disordes of the ovary and female reproductive tract.* In: „Williams textbook of endocrinology" (red. Wilson D.J., Foster W.D), W.B. Sauders Co., Philadelphia, 1992, 733–798.
36. CHAPLIN D.D., KEMP M.E. – *The major histocompatibility complex and autoimunity.* Year Immunol. 1986–1987, 3, 179.
37. CINADER B., MILLER R.G. – *Progress in immunology.* Acad. Press, New York, 1987, 32–42.
38. COCULESCU M. – *Neuroendocrinologie clinică.* Edit. Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti, 1986, 356–357.
39. De BAETS M.H. – *Autoimune endocrine diseases.* Year Immunol. 1986, 15, 263.
40. DINARELLO C.A., MIER J.W. – *Lymphokines.* N. Engl. J. Med., 1987 317, 940–945.
41. DUMITRACHE C. – *Fiziopatologia corticosuprarenalei.* În: „Fiziologia şi fiziopatologia sistemului endocrin"(sub. red. Teodorescu-Exarcu.), Edit. Medicală, Bucureşti, 1989, 699–735.
42. FARID N.R., STENSZKY V. – *The major histocompatibility complex and autoimune thyroid disease.* Mount Sinaai J. Med. 1986, 53, 6–18.
43. FATTOROSSI A., AURBACH D.G., SAKAGUCHI C. – *Anti-endothalial cell antibodies: detection and caracterization in sera from patients with autoimmune hypoparathyroidism.* Proc. Nat. Acad. Sci, USA, 1988, 85, 4015–4019.
44. FRANKS S. – *Reproductive endocrinology.* In: „Clinical endocrinology and diabetes" (sub red. Sheppard C.M., Franklin A.J.), Churchill Livingstone, Edinburg, 1988.
45. GOZARIU I. – *Hipoparatiroidismul.* În: „Tratat de endocrinologie clinică" (sub red. Milcu St.) Edit. Academiei Române, Bucureşti, 1992, 483–497.
46. GREENSPAN S.F. – *Basic and Clinical Endocinology.* Prentice Hall International Lange Med., London, 1991, 40–52.
47. GREENSPAN S.F., FORSHAM H.P. – *Basic and Clinical Endocrinology.* Lange Medical Publ. Los Altos, 1986, 288–295.
48. GRIFFIN J.E., WILSON D.J. – *Disorders of the testes and the male reproductive tract.* In: „Williams textbook of endocrinology" (sub red. Wilson D.J., şi Foster W.D), W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1992, 799–852.
49. GRIGORIE D. – *Tulburări ale homeostaziei minerale.* În: „Tratat de endocrinologie clinică" (sub red. Milcu St.) Edit. Academiei Române, Bucureşti, 1992, 527–545.
50. GUAY A.T. – *Lymphocytic hypophysitis in a man.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 1987, 64, 631.
51. HOMBERG J.G. – *Hypoparathyroidism, ovarian insufficiency and adrenal insuffiency of autoimmune origin.* Rev. Prat., 1986, 36, 3505.
52. IMURA H. – *The pituitary gland.* Raven Press, New York, 1985, 501–526.
53. IONESCU B., DUMITRACHE C. – *Sexualizarea normală şi patologică.* Edit. Medicală, Bucreşti, 1987, 341–344.
54. JUBIZ W. – *Endocrinology. A logical approach for clinicians.* McGraw-Hill Intern. Edit. Medical Science Series, New York, 1987, 440–459.
55. KARASIK A., O'HARA C., SRIKANTA S. – *Genetically programmed selective islet cell loss in diabetes mellitus of Wolfram syndrome.* Diabetes Care, 1989, 12, 135–138.
56. LABHART A. – *Clinical endocrinology.* Theory and practice. Spriger Verlag, Berlin, 1986, 54–66.
57. LARSEN R.P., INGBAR H.S. – *The thyroid gland.* In: „Williams textbook of endocrinology" (sub. red. Wilson D.J., Foster W.D.), W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1992, 357–488.

58. LATINNE D. – *Addison's disease: Immunological aspects.* Tissue Antigens, 1987, 30, 23.
59. LESHIN M. – *Polyglandular autoimmune syndromes.* Am. J. Med. Sci. 1985, 290, 77.
60. LEVINSON W.E. JAWETZ E. – *Medical microbiology and immunology.* Lange Med. Book., Prentice-Hall Intern. Inc., San Francisco, 1992, 313–315.
61. LUNGU G.R. – *Spasmofilia.* În: „Tratat de endocrinologie clinică" (sub red. Milcu St.), Edit. Academiei Române, București, 1992, 503–520.
62. MARIOTTI S., SHIOVATO L., VITTI P. – *Recent advances in the understanding of humoral and cellular mechanisms in thyroid autoimmune disorders.* Clin. Immunol. Immunopathol. 1989, 50, 573–584.
63. McDERMONTT M.W. – *Lymphocytic adenohypophysitis.* Can. J. Neurol. Sci. 1988, 15, 38.
64. McGREGOR A.M., HALL R. – *Thyroiditis.* In „Endocrinology" (sub. red. De Groop L.J.), Saunders Co., Philadelphia, 1989, 693–701.
65. MILCU ST.M. (red.) – *Tratat de endocrinologie clinică.* Edit. Academiei Române, București, 1992, 24–28.
66. MINCU I. – *Diabetul zaharat* (hipoinsulinismul). În: „Tratat de endocrinologie clinică" (sub red. Milcu St.) Edit. Academiei Române, București, 1992, 607–608.
67. MOLVIG J., BACK J., CHRISTENSEN P. – *Endotoxin stimulated human monocyte secretion of interleukin-1, tumor necrosis factor alpha and prostaglandin E_2 shows stable interindividual differences.* Scand. J. Immunol. 1988, 27, 705–716.
67. bis. MOLLER D.E., FLIER J.S. – *Detection of an alteration in the insulin receptor gene in a patient with insulin resistance, acanthosis nigricans, and the polycystic ovary syndrome (type A insulin resistance).* N. Engl. J. Med., 1988, 84, 3334–3338.
68. MONROE J.G., GREENE M.I. – *Anti-idiotypic antibodies and disease.* Immunol. Invest, 1986, 15, 263.
69. NERUP J., MANDRUP–POULSEN T., MOLVING J. – *Mechanism of pancreatic beta-cell destruction in type I diabetes.* Diabetes Care, 1988, 11 (Suppl.1), 16–23.
70. ORTH N.D., KOVACS W.J., DEBOLD C.R. – *The adrenal cortex.* In: „Williams textbook of endocrinology" (sub red. Wilson D.J., Foster W.D) W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1992, 520–529.
71. PERETIANU D. – *Fiziopatologia integrării endocrine.* În: „Tratat de fiziopatologie" (sub red. Saragea M.), Edit. Academiei Române, București, 1985, vol. 1, 645–820.
72. PERETIANU D. – *Elemente de patologie imună a glandelor endocrine și corelații imunoendocrine.* În: „Tratat de endocrinologie clinică" (sub red. Milcu St.), Edit. Academiei Române, București, 1992, 114–129.
73. PETITE J., ROSSET N., CHAPUIS B. – *Genetics factors predisposing to autoimmune diseases.* Study of HLA antigens in a family with pernicious anemia and thyroid disease. Schweiz. Med. Wochenschr. 1987, 117, 2032–2037.
74. PIEPTEA R., PERETIANU D. – *Fiziopatologia diabetului zaharat.* În: „Tratat de endocrinologie clinică" (sub red. Milcu St.), Edit. Academiei Române, București, 1992, 617–637.
75. POUPLARD A., BOTTAZZO G.F., DONIACH D. – *Binding of human immunoglobulins to pituitary* ACTH cells. Nature, 1976, 261, 142–144.
76. RABINOWE S.L., RAVNIKAR V.A., DIB A. – *Premature menopause: monoclonal antibody defined T cell lymphocyte abnormalities and antiovarian antibodies.* Fertil. Steril. 1989, 51, 450–454.
77. ROITT I., BROSTOFF J., MALE D. – *Immunology.* Gower Med. Publishing, London, 1989, 23–24, 231–240.
78. RUSSELL P.J. – *Genetics.* Harper Collins Publishers, New York, 1992, 587–610.
79. SALVI M., FUKAZAWA H., BERNARD N. – *Role of autoantibodies in the pathogenesis and asociation of endocrine autoimmune disorders.* Endocr. Rev. 1988, 9, 450–466.
80. SHEPPARD M.C., FRANKLYN J.A. – *Clinical endocrinology and diabetes.* Churchill Livingstone, Edinburgh, 1988, 61–92.
81. SIMIONESCU LIGIA – *Imunochimia hipertiroidiei.* Simp. Naț. Endocrinologie, Craiova, 1991, 5–10.

82. STITES D.P., STOBO J.D., FUDENBERG H.H., WELLS J.V. – *Basic and clinical immunology*. Lange Med. Publ., California, 1987.
83. STITES D.P., TERR A. – *Basic and clinical immunology*. Lange Med. Publ., California, 1991, 464–465.
84. TUCKER W.S., NIBLACK G.D., McLEAN R. – *Serositis with autoimmune endocrinopathy: clinical and immunogenetic features*. Medicine, 1987, 66, 138–147.
85. UNGER R.H., FOSTER D.W. – *Diabetes mellitus*. In: „Williams textbook of endocrinology" (sub red. Wilson D.J., Foster W.D), W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1992, 1255–1333.
86. VITA J.A. – *Clinical clues to the cause of Addison's disease*. Am. J. Med., 1985, 78, 461.
87. VOLPE R. – *Immunological aspects of thyroid diseases*. Triangle, 1984, 23, 95–109.
88. WEIR M.D., STEWART J. – *Immunology*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1993, 283–324.
89. WILSON D.J., FOSTER W.D. – *Williams textbook of endocrinology* W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1992, 1–9.
90. WULFFRAAT N.M., DREXHAGE H.A. BOTTAZZO G.F. – *Immunoglobulins of patients with idiopathic Addison's disease block the in vitro action of adrenocorticotropin*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1989, 69, 231–238.
91. ZOSIN IOANA – *Tiroidita (auto)imună*. În: „Tratat de endocrinologie clinică" (sub red. Milcu St.), Edit. Academiei Române, București, 1992, 380–389.

CERCETĂRI IMUNOLOGICE RECENTE ÎN RECTOCOLITA HEMORAGICĂ ȘI BOALA CROHN

Prof. dr. D. DEJICA
Disciplina de imunologie clinică

Clinica III Medicală
Universitatea
de Medicină și Farmacie
Cluj-Napoca

Rectocolita hemoragică (RCH) şi boala Crohn (BC) constituie „bolile inflamatorii intestinale" (BII), entităţi cu etiologie necunoscută, net distincte de celelalte boli entero-colice cu cauză precizată. Din punct de vedere clinico-evolutiv, ele ar trebui denumite BII cronice, întrucât aceasta este o trăsătură definitorie a lor, chiar dacă în unele cazuri debutul este de tip acut. În 10% din cazuri, RCH şi BC nu se pot distinge din punct de vedere clinic, radiologic şi histologic, ceea ce constituie pentru unii premiza argumentării unei singure boli inflamatorii intestinale, cu două variante morfo-clinice (94). Pe de altă parte, există păreri că aceeaşi entitate, cum este RCH, poate fi „o umbrelă care acoperă o varietate de manifestări clinice proteiforme" (66), cum este cazul diferenţelor evidente dintre proctită şi RCH extinsă (98), iar în privinţa BC, se profilează ideea că aceasta ar reprezenta mai degrabă un sindrom decât o boală distinctă (221). Chiar dacă se admite că RCH şi BC sunt entităţi net separate, nu se ştie dacă ele sunt cauzate de un singur sau mai mulţi agenţi etiologici, dacă evenimente patogenetice singulare sau multiple sunt implicate în declanşarea şi perpetuarea leziunilor intestinale.

De-a lungul anilor au fost efectuate numeroase cercetări în vederea lămuririi etiopatogenezei BII. Cu toate acestea, cauza este încă necunoscută, motiv pentru care, când se referă la RCH şi BC, unii autori folosesc termenul de „BII idiopatice". În urmă cu 20 ani consideram mai potrivit să se afirme că etiopatogeneza este încă neprecizată, deoarece, încă atunci, se făcea lumină în desişul ipotezelor elaborate de-a lungul unei jumătăţi de secol (38).

Unii autori grupează anumite concepţii etiopatogenetice, alţii dezvoltă anumite teorii, ipoteze. Noi am grupat cinci factori: genetic, infecţios, enzimatic, psihosomatic şi imunologic (70). În ce priveşte RCH, considerăm că această boală are o patogeneză multifactorială, cu mecanisme efectoare imunologice (69). Cercetările din ultimii 10 ani au abordat patogeneza BII îndeosebi din punct de vedere imunologic, acumulându-se tot mai multe date care îndreptăţesc încadrarea lor în grupul bolilor cu implicaţii imune şi chiar autoimune (202).

Progresele recente din imunologia fundamentală au creat premizele aprofundării dereglărilor imunităţii umorale şi celulare din BII, precum şi conturarea mecanismelor leziunilor tisulare din RCH şi BC. Amorsarea

dereglărilor imune (I) şi mecanismele efectoare ale inflamaţiei (II) din BII constituie elementele independente şi interdependente ale perturbărilor imune şi neimune din RCH şi BC. După cum vom vedea, nu se poate face o delimitare netă între factorii determinanţi şi favorizanţi, cauză şi efect, dar s-au acumulat date noi care prefigurează un mozaic al dereglărilor imune din BII, cu unele particularităţi pentru cele două entităţi.

I. DEREGLĂRILE IMUNE DIN B II

Comentând componentele patogenice posibile din BII, Fiocchi (66) presupune intervenţia a cinci factori, toţi cu implicaţii imunologice: infecţioşi, imunogenetici, autoimuni, ai răspunsului imun aberant şi psihoneuroimuni.

1. FACTORII INFECŢIOŞI

Nu s-au evidenţiat până acum bacterii, virusuri sau fungi specifice pentru BII. Totuşi, rolul microorganismelor şi în particular al bacteriilor florei intestinale, nu poate fi ignorat. Deşi multe studii au raportat intervenţia enterobacteriaceelor în amorsarea mecanismelor patogenetice din BII, nu s-au adus date convingătoare decât în ultimii ani. Astfel, s-a demonstrat adezivitatea exagerată a E. coli izolate din fecalele bolnavilor, comparativ cu persoanele sănătoase şi bolnavii cu diaree de origine infecţioasă (23). Cercetările serologice au demonstrat titruri înalte ale anticorpilor faţă de un spectru larg de microorganisme intestinale comensuale şi patogene, mai de mult B. coli, mai recent Klebsiella (30). Antigenul comun enterobacterian sau antigenul lui Kunin a redevenit actual prin faptul că: 1) are epitopi comuni cu antigenul mucopolizaharidic intestinal descris de Broberger şi Perlmann în 1963, 2) produce anticorpi anticolon la iepurii imunizaţi şi 3) induce la animalele de experienţă o colită cronică prin complexele imune care se dezvoltă (117).

Dacă acest antigen bacterian poate fi incriminat în RCH, BC ar fi legată de o variantă a Mycobacterium paratuberculosis (121). Dar, acesta din urmă 1) s-a izolat rar din leziunile intestinale, 2) nu s-a evidențiat prin metode histoimunochimice în țesuturile afectate, 3) nu s-a demonstrat o alterare semnificativă a răspunsului imun celular față de acesta etc. Totuși, se rediscută recent intervenția antigenilor mycobacterieni în BC în urma decelării anticorpilor specifici, atât la bolnavi cât și la rudeniile lor (222).

Chiar dacă nu s-a dovedit intervenția unui microorganism patogen specific, se discută tot mai mult rolul unui component normal al florei bacteriene intestinale, care poate deveni patogen la persoane susceptibile (159). Simpla prezență a unei cantități mari de antigeni și mitogeni de origine bacteriană în lumenul intestinal are un impact însemnat asupra sistemului imun local. Endotoxinele (lipopolizaharide îndeosebi), componente ale peretelui celular al bacteriilor Gram-negative, sunt substanțe imunomodulatoare foarte puternice (54). Antigenul comun al lui Kunin este prezent la toate enterobacteriaceele și reacționează încrucișat cu celulele epiteliului intestinal, iar la bolnavii cu BII s-a evidențiat un răspuns imun exagerat față de acesta (22).

În urmă cu mai mulți ani s-a semnalat existența unor similitudini între tuberculoza intestinală și BC. Recent, s-a încercat o apropiere patogenetică a acestor îmbolnăviri. M. tuberculosis induce un răspuns imun celular puternic, mai puțin unul umoral. Hipersensibilitatea de tip tardiv este mult amplificată dacă mycobacteriile sunt administrate concomitent cu ulei de parafină. Este o constatare veche a lui Freund (1937), care a dus la prepararea adjuvantului care-i poartă numele, folosit în obținerea unor răspunsuri imune puternice la diferiți antigeni. Prezența receptorilor pentru lipide la suprafața celulelor epiteliale ileale poate promova endocitoza fragmentelor bacteriene asociate lipidelor (225). Unele mycobacterii necesită lipide exogene pentru a-și alungi lanțurile proprii de acizi grași și de a crește (224). În multe celule ale epiteliului ileal din leziunile inflamatorii se constată lizozomi sau fagolizozomi care conțin lipide în dispoziție lamelară spiralară, „myelin-like" (130).

Acești constituienți mielinici, numiți acum „corpi R" (reactanți), conțin predominant esteri ai colesterolului. Ei nu au fost găsiți în RCH și alte boli intestinale (45). Roediger (168) a elaborat recent o ipoteză etiopatogenetică nouă în BC, considerând că corpii R, împreună cu fragmentele bacteriene, reprezintă stimulii antigenici și cauza fundamentală a apariției inflamației intestinale. Esterii colesterolului sunt captați selectiv, îndeosebi de macrofage, unde nu sunt hidrolizați ca în condiții normale și se depozitează sub formă de structuri lamelare, în fagolizozomi. Endocitoza concomitentă a unor constituenți bacterieni (mycoplasme? mycobacterii? streptococi?) creează condițiile formării corpilor R, puternic antigenici care, în urma transcitozei, sunt captați de macrofagele din zonele mai profunde ale intestinului, unde induc activarea imună și reacția inflamatorie, observate în leziunile active (fig. 88).

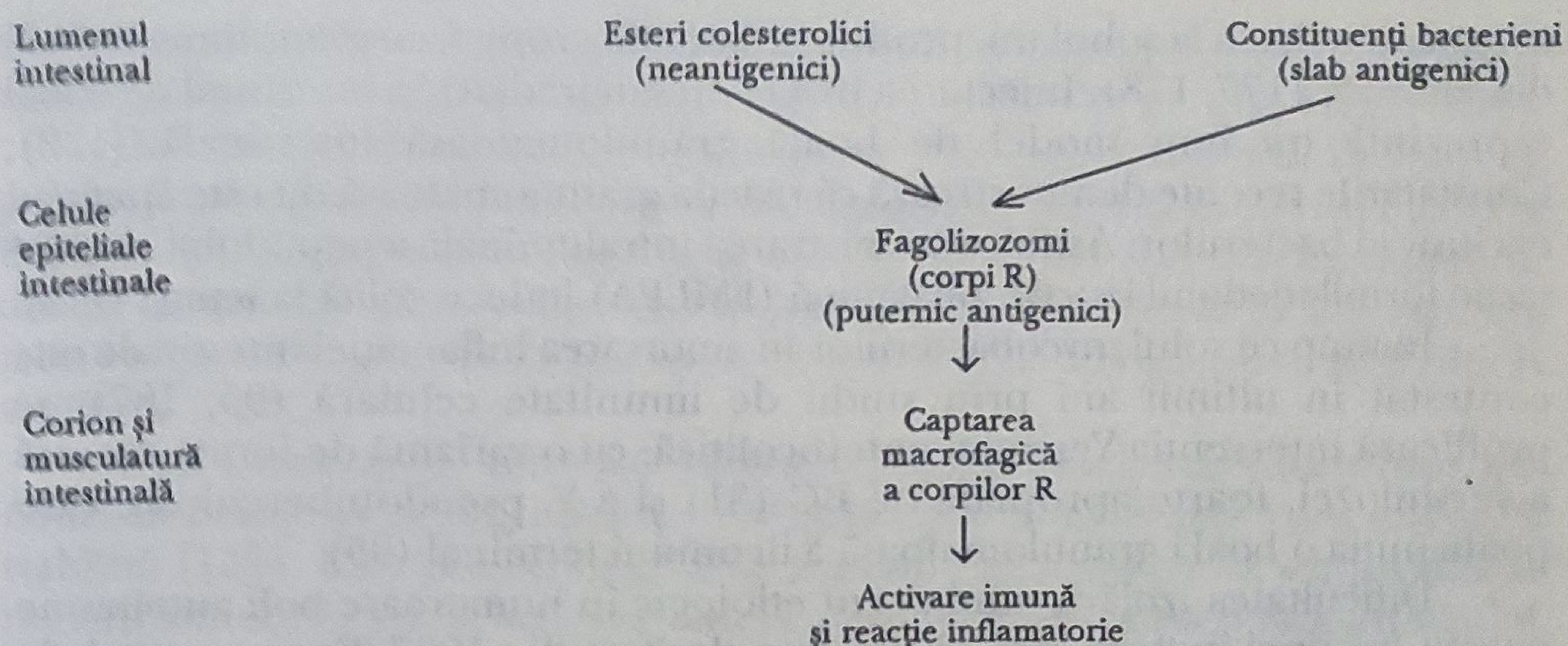


Fig. 88. Mecanismul apariției activării imune și reacției inflamatorii induse de bacterii în boala Crohn (168).

Alături de argumentele electrono-microscopice și biochimice, un număr de observații clinice susțin ipoteza elaborată:

– nutriția parenterală, care reduce substanțial concentrația lipidelor din lumenul intestinal, produce remisie la 66–89% din bolnavii cu BC (197). „Elemental diet" este la fel de eficientă ca prednisolonul în inducerea remisiunii (146). De menționat că uleiurile vegetale, folosite în dietele elementare, nu devin antigenice când sunt combinate cu mycobacterii;

– leziunile din BC sunt predilecte în regiunile intestinale cu o bună capacitate de absorbție a acizilor grași și bilei și unde există o floră bacteriană bogată – ileonul terminal și colonul;

– BC este rară în Africa la aborigeni, comparativ cu cei originari din Europa, primii fiind consumatori de cantități extrem de reduse de grăsimi; sunt incriminate îndeosebi grăsimile cu acizi grași polinesaturați supuse procesului termic culinar;

– deoarece corpii R nu conțin germeni viabili, este explicabil de ce nu s-a reușit izolarea și cultivarea bacteriilor din leziunile tisulare.

Studiile epidemiologice recente readuc în actualitate participarea agenților infecțioși în BII: 1. apariția puseelor la copii după infecții virale sau cu mycoplasma (102); 2. importanța infecțiilor virale febrile perinatale, care măresc de 18 ori riscul pentru BII ulterioare (51); 3. existența în Suedia a unei cohorte de subiecți cu risc pentru BII, născuți în primele 6 luni ale anilor 1943–1954, perioadă care s-a remarcat printr-o mare incidență a epidemiilor gripale (52).

În fine, rolul germenilor în amorsarea procesului inflamator intestinal prin mecanisme imune este susținut de experimentele pe animale. Suspensiile de perete bacterian sau proteoglicani de la streptococi grup A sau D, injectate

în mucoasa ileală la şobolani, produc inflamaţie cronică cu granulome la 50% din animale (177, 178). Injectarea BCG (viu sau iradiat) în intestinul de cobai reprezintă un bun model de boală granulomatoasă intestinală (138). Constatările recente demonstrează că reacţia granulomatoasă nu este apanajul exclusiv al bacteriilor. Astfel, administrarea intraluminală a peptidului chemotactic formil-metionil-leucil-fenilalanină (FMLPA) induce colită la iepuri (113).

În timp ce rolul mycobacteriilor în amorsarea inflamaţiei intestinale este contestat în ultimii ani prin studii de imunitate celulară (95, 187), se profilează intervenţia Yersiniei enterocolitică, cu o variantă de formă cronică a yersiniozei, foarte apropiată de BC (31) şi a Y. pseudotuberculosis, care poate iniţia o boală granulomatoasă a ileonului terminal (95).

Dificultatea izolării unui agent etiologic în numeroase boli autoimune a făcut loc unei ipoteze care câştigă popularitate din 1987. Ea porneşte de la acţiunea iniţială a unui germen care intervine pe baza aşa-ziselor „molecular mimicry" şi „hit-and-run" (147). Conform acestei concepţii, o bacterie sau un virus, la nivelul unui anumit organ, promovează un răspuns imun local, ce poate duce la eliminarea sau distrugerea „agresorului". Însă anticorpii faţă de germen sau limfocitele sensibilizate de acesta, datorită comunităţii antigenice („mimetism molecular") cu unele celule ale organului respectiv, „atacă" proprii constituenţi, amorsând o reacţie autoagresivă, deşi „agresorul" a dispărut („loveşte şi fuge"). Aşa se explică în ultimii ani unele afecţiuni ca, boala coeliacă, spondilita anchilozantă, sindromul Reiter, dovedindu-se comunitatea antigenică a gliadinei cu proteina EIB din adenovirusul uman Ad-12 şi a alelei HLA-B27 cu nitrogenaza din Klebsiella pneumoniae (66). În ce priveşte BII, nu se cunoaşte precis un agent microbian sau virusal care să aibă „mimetism" antigenic cu celulele epiteliului intestinal, să declanşeze un răspuns imun faţă de acestea şi ...„să fugă".

Concepţia infecţioasă sugerează că, faţă de agentul incriminat, organismul realizează un răspuns imun şi inflamator inadecvat (viguros şi prelungit). Conform acestei ipoteze, problema fundamentală rezidă în defectul genetic al sistemului imun (121).

2. FACTORII IMUNOGENETICI

Agregarea familială este recunoscută mai de mult şi e argumentată în ultimii ani: prevalenţa crescută (5–10%) la rudeniile de gradul I ale subiecţilor cu BII, incidenţa ridicată la unele populaţii, notabilă la evreii Ashkenazi, rata

foarte mare a concordanței BC între gemenii monozigoți, riscul de îmbolnăvire de 10 ori mai mare la rudeniile de gr. I ale bolnavilor ș.a. (12, 41, 159, 215).

Dovada predispoziției genetice pentru BC este evidentă, în timp ce pentru RHC datele sunt mai puțin convingătoare. Studiul incidenței RCH și BC la rudeniile bolnavilor sugerează că cele două boli au o bază poligenică, dar că factorii de mediu sunt mai importanți în RCH decât în BC. Această teorie ar putea explica de ce mai mulți bolnavi cu BC au rudenii cu RHC decât viceversa (117).

Deși observațiile amintite pledează pentru contribuția factorilor genetici la patogeneza BII, natura produșilor genici relevanți nu a fost încă stabilită (159). Este posibil ca genele aberante să codifice fie un produs al reglării imune, fie un factor care contribuie la o alterare structurală a tractului gastrointestinal al bolnavilor cu RCH și BC.

Cu toate că cercetările inițiale nu au constatat o implicare semnificativă a antigenilor HLA și BII, studiile mai recente au demonstrat o asociere între BII și unele alele HLA. *Complexul major de histocompatibilitate (MHC)* este reprezentat de gene localizate pe brațul scurt al cromozomului 6, care participă la reglarea răspunsului imun. Genele MHC codifică două clase de molecule de la suprafața celulelor: antigenii din clasa I (HLA-A, B, C) și clasa II-a (HLA-DR, DP, DQ). Examinarea antigenilor HLA-A, B, C și DR nu a arătat o corelație clară și uniformă cu apariția BII. Chiar în familii, bolnavii nu au același tip HLA. Totuși, numeroase studii sugerează rolul predispozant al haplotipului HLA-B27 în apariția BII (28): 1. HLA-B27 este mai frecvent la subsetul de bolnavi cu BII care au spondilită anchilozantă; 2. bolnavii cu artropatii asociate cu haplotipul HLA-B27 au foarte frecvent ileite și colite asimptomatice (documentate endoscopic și bioptic); 3. șobolanii transgenici pentru B27 dezvoltă o boală inflamatorie apropiată histologic de BII; 4. clonarea HLA-B27 a permis găsirea unei omologii de secvență aminoacidică („molecular mimicry") cu unele sușe de Yersinia, Salmonella, Shigella și Klebsiella. Astfel, afectarea intestinală și articulară la bolnavii cu HLA-B27 poate fi în parte explicată de reacția imună încrucișată dintre antigenul B27 și epitopii bacteriilor digestive comensuale.

Analiza și sumarea studiilor imunogenetice demonstrează asocierea frecventă la albi a BC cu HLA-2, iar a RCH cu HLA-B27 și HLA-BW35, pe când la japonezi, RCH este frecventă la purtătorii HLA-B5 (171).

De un interes mai mare s-a dovedit studiul alelelor clasei a II-a HLA, responsabile de dezvoltarea răspunsului imun față de un antigen. Din șase cercetări ale HLA-DR în RCH, în patru se semnalează frecvența crescută a alelelor DR2, îndeosebi la populațiile mai omogene, ca japonezii (171). În ce privește BC, datele sunt mai puțin convingătoare, o asociere clară fiind raportată cu HLA-DR4, tot la japonezi (72). În 1933, Toyoda și colab. (216) constată o corelație pozitivă a RHC cu alelele DR2 și negativă cu DR4 și DR6,

în timp ce BC se asociază cu combinația alelelor DR1 și DQ5. Din cele prezentate s-ar părea că moleculele DR și DQ separă pe baze genetice RCH de BC.

Expresia la nivel celular a moleculelor MHC din cl. II-a este de mare actualitate în BII, deoarece acestea pot juca un rol în prezentarea diferiților antigeni limfocitelor T helper (CD4+), cu amorsarea consecutivă a unui răspuns imun. Antigenii clasei a II-a HLA nu sunt prezenți în mod normal la nivelul epiteliului mucoasei colonului, dar sunt moderat exprimați de mucoasa intestinului subțire. În BII, mucoasa inflamată expune „de novo" antigenii clasei a II-a și se amplifică expresia lor în ileonul terminal (134). Expresia epitelială a DR este demonstrată la 70% din bolnavii cu RCH activă și la 90% din cei cu BC activă (17, 160). Această apariție patologică sau neoexpresie a moleculelor din cl. II-a pe celulele epiteliului intestinal poate antrena modificarea răspunsului imun față de un antigen dat și să provoace apariția unei reacții autoimune (v. relația dintre expresia HLA-DR și limfocitele B și T). Moleculele de pe suprafața celulelor epiteliale pot fi ele însăși receptori pentru antigenii bacterieni (sau de altă natură). Este posibil de asemenea ca antigenii răspunzători de inițierea BII să conțină epitopi „HLA-like", care să stea la baza răspunsului imun inadecvat față de ei, ceea ce le permite persistența îndelungată în țesutul afectat și implicit inflamația cronică intestinală (106).

Demonstrarea expresiei antigenilor HLA-DR pe celulele epiteliului mucoasei intestinale la sănătoși (205) și la 9 din 10 bolnavi cu colită infecțioasă acută (136) sugerează nespecificitatea modificărilor semnalate în BII. Pe de altă parte, sunt studii (60) care relevă corelația expresiei HLA-DR cu markerii activării limfocitare, ca receptorul transferinei și interleukinei 2, precum și absența antigenilor DR în epiteliul indem al bolnavilor în puseu. Totodată, alte cercetări găsesc o corelație strânsă între expresia epitelială a HLA-DR din mucoasa rectocolitică și numărul limfocitelor care sintetizează interferonul (IFN) gamma, stimulatorul major al expresiei „de novo" a antigenilor HLA-DR (132). Există dovezi că celulele epiteliului colonului din BII active, datorită expresiei locale a HLA-DR, pot prezenta antigenii limfocitelor T helper, pe care le stimulează preferențial, în dauna celor supresoare, ceea ce creează premizele amplificării leziunilor prin agresiune imună (133, 134). Expresia marcată a moleculelor MHC cl. II-a pe celulele gliale din plexul nervos submucos și mienteric ar putea juca un rol în lezarea acestor structuri și alterarea controlului neuronal, semnalate în BII (73).

Genele clasei a III-a a MHC includ, printre alții, unii componenți ai complementului. Sistemul complementului joacă un rol major în răspunsul imun și este implicat în realizarea inflamației mucoasei din BII (171). În BC s-a demonstrat producerea excesivă a componenților complementului în mucoasa intestinului subțire (3). Se sugerează că susceptibilitatea genetică pentru BC poate fi dependentă de genele complementului. Afirmația se

bazează pe faptul că 38% din bolnavi și 18% din rudeniile de gr. I prezintă o generare anormală a activității chemotactice și utilizare redusă a C3 de către calea alternativă a complementului, aspect neîntâlnit în RCH (53). Modificările par să fie familiale și nu secundare bolii. Pe de altă parte, s-a raportat o asociere a polimorfismului C3 la bolnavii cu BC, fenotipurile F și FS apărând semnificativ mai frecvent în comparație cu RCH și persoanele sănătoase.

Imunoglobulinele din clasa G sunt dominante în mucoasa inflamată din BII. Mai recent s-a relevat comportamentul aparte al unor subclase ale IgG (89). Studiul histoimunologic pe biopsii rectale de la 45 gemeni monozigoți, unii în acalmie, alții sănătoși, a demonstrat creșterea semnificativă a numărului limfoplasmocitelor secretoare de IgG1 nu numai la rectocolitici, ci și la gemenii care nu aveau manifestările bolii. Aspectul acesta nu a fost observat la gemenii bolnavilor cu BC. Pe baza acestor constatări se poate susține cu tărie că anomaliile subclasei IgG1 în RCH (vide infra) sunt genetic determinate și constituie unul din elementele de deosebire între cele două entități ale BII.

3. FACTORII AUTOIMUNI

În explicarea manifestărilor clinice și patologice din multe boli cronice cu etiologie necunoscută au fost și sunt invocați factorii autoimuni. BII fac parte și ele din grupul acestor îmbolnăviri, dar este dificil de precizat măcar o singură manifestare autoimună care să fie specifică și reproductibilă pentru RCH sau BC și care să reprezinte un eveniment inițiator al leziunilor intestinale (63). Astăzi se pune tot mai frecvent întrebarea dacă BII pot fi considerate cu adevărat boli autoimune și dacă există argumente suficiente și peremptorii pentru a susține acest concept (63, 202).

Argumente clinice în favoarea originii autoimune a BII au fost reactualizate pe criteriile general valabile pentru bolile autoimune: 1) asocieri autoimune la același individ; 2) agregarea familială; 3) influența mediului ambiant și 4) răspunsul terapeutic la corticosteroizi.

Într-un studiu efectuat la 1236 bolnavi cu BII din Anglia s-a constatat *asocierea bolilor autoimune* la 6,6% din RCH și numai 1,9% din BC (201). Pentru RCH diferența este semnificativă comparativ cu populația generală. Cele mai frecvente manifestări autoimune sunt endocrine (hipo- și hipertiroidism, diabet), hematologice (anemii hemolitice) și cutanate (alopecie,

vitiligo). Încadrarea recentă a colangitei scleroase primitive ca boală autoimună face ca asocierea RCH–boli autoimune să crească la 9%, prevalenţa bolii canaliculobiliare în RCH fiind de 3,7% (149). Într-un studiu suedez efectuat la 1274 bolnavi cu RCH, 86 (7%) prezentau o boală autoimună asociată (139). În ambele studii nu s-a semnalat o relaţie între activitatea şi extinderea RCH, pe de o parte şi apariţia unei boli autoimune, pe de altă parte, sugerând că asocierea nu este cauzală, ci mai degrabă o predispoziţie comună la ambele boli. Totodată, nu s-a constatat preponderenţa feminină, obişnuită în bolile autoimune. În fine, o grupă de boli autoimune se asociază cu BII prin sistemul HLA. Astfel, spondilita anchilozantă, sacroiliita, oligoartrita enteropatică şi uveita anterioară se însoţesc de haplotipul HLA-B27. Relaţia frecventă a acestui antigen cu BII a fost amintită anterior, una sau mai multe din bolile amintite apărând la peste 10% din bolnavii cu RCH şi BC, prevalenţa lor în BC fiind corelată cu extinderea leziunilor colonului (79).

Argumentele pentru **susceptibilitatea genetică** la BII au fost discutate la factorii imunogenetici. Merită să fie făcută o detaliere pentru a scoate în evidenţă diferenţa dintre BC şi RCH. Astfel, din 18 gemeni monozigoţi, BC a apărut la 8 perechi (46%), în timp ce RCH doar la o pereche din 16 (8%); la dizigoţi nu s-a observat concordanţa nici în BC (215).

Influenţa mediului joacă un rol important în apariţia bolilor autoimune. Agenţii infecţioşi au fost amintiţi anterior ca factori incriminaţi prin mimetismul molecular, alterarea antigenilor membranali ai epiteliului intestinal sau/şi prin antrenarea răspunsului autoimun faţă de constituenţi celulari eliberaţi în urma destrucţiilor celulare (28).

În fine, dacă răspunsul terapeutic la *corticosteroizi* ar fi un argument clinic decisiv, atunci BII ar putea fi încadrate fără rezerve în grupul bolilor autoimune, deoarece, până astăzi, tratamentul major al RCH şi BC rămâne corticoterapia (74).

Argumente imunologice pentru intervenţia mecanismelor autoimune în BII au fost aduse de numeroase cercetări din ultimii 30 ani, dar nu au un caracter irefutabil. Încadrarea unei boli ca autoimună necesită, cu ani în urmă, demonstrarea existenţei autoanticorpilor şi/sau a limfocitelor autoreactive specifice pentru boala respectivă, prezenţa la toate persoanele şi cel mai important – posibilitatea reproducerii bolii prin transfer singeneic (202). Cele patru postulate emise recent de Bona (15) implică evidenţierea autoanticorpilor sau limfocitelor T la nivelul leziunilor, inducerea leziunilor sau simptomelor bolii autoimune prin transferul pasiv al autoanticorpilor sau limfocitelor T, identificarea autoantigenilor cu proprietăţi imunogene şi producerea bolii de către genele care codifică autoanticorpii sau limfocitele T patogene exprimate de animalele transgenice. Aceste condiţii nu pot fi

vitiligo). Încadrarea recentă a colangitei scleroase primitive ca boală autoimună face ca asocierea RCH–boli autoimune să crească la 9%, prevalența bolii canaliculobiliare în RCH fiind de 3,7% (149). Într-un studiu suedez efectuat la 1274 bolnavi cu RCH, 86 (7%) prezentau o boală autoimună asociată (139). În ambele studii nu s-a semnalat o relație între activitatea și extinderea RCH, pe de o parte și apariția unei boli autoimune, pe de altă parte, sugerând că asocierea nu este cauzală, ci mai degrabă o predispoziție comună la ambele boli. Totodată, nu s-a constatat preponderența feminină, obișnuită în bolile autoimune. În fine, o grupă de boli autoimune se asociază cu BII prin sistemul HLA. Astfel, spondilita anchilozantă, sacroiliita, oligoartrita enteropatică și uveita anterioară se însoțesc de haplotipul HLA-B27. Relația frecventă a acestui antigen cu BII a fost amintită anterior, una sau mai multe din bolile amintite apărând la peste 10% din bolnavii cu RCH și BC, prevalența lor în BC fiind corelată cu extinderea leziunilor colonului (79).

Argumentele pentru **susceptibilitatea genetică** la BII au fost discutate la factorii imunogenetici. Merită să fie făcută o detaliere pentru a scoate în evidență diferența dintre BC și RCH. Astfel, din 18 gemeni monozigoți, BC a apărut la 8 perechi (46%), în timp ce RCH doar la o pereche din 16 (8%); la dizigoți nu s-a observat concordanța nici în BC (215).

Influența mediului joacă un rol important în apariția bolilor autoimune. Agenții infecțioși au fost amintiți anterior ca factori incriminați prin mimetismul molecular, alterarea antigenilor membranali ai epiteliului intestinal sau/și prin antrenarea răspunsului autoimun față de constituenți celulari eliberați în urma destrucțiilor celulare (28).

În fine, dacă răspunsul terapeutic la *corticosteroizi* ar fi un argument clinic decisiv, atunci BII ar putea fi încadrate fără rezerve în grupul bolilor autoimune, deoarece, până astăzi, tratamentul major al RCH și BC rămâne corticoterapia (74).

Argumente imunologice pentru intervenția mecanismelor autoimune în BII au fost aduse de numeroase cercetări din ultimii 30 ani, dar nu au un caracter irefutabil. Încadrarea unei boli ca autoimună necesită, cu ani în urmă, demonstrarea existenței autoanticorpilor și/sau a limfocitelor autoreactive specifice pentru boala respectivă, prezența la toate persoanele și cel mai important – posibilitatea reproducerii bolii prin transfer singeneic (202). Cele patru postulate emise recent de Bona (15) implică evidențierea autoanticorpilor sau limfocitelor T la nivelul leziunilor, inducerea leziunilor sau simptomelor bolii autoimune prin transferul pasiv al autoanticorpilor sau limfocitelor T, identificarea autoantigenilor cu proprietăți imunogene și producerea bolii de către genele care codifică autoanticorpii sau limfocitele T patogene exprimate de animalele transgenice. Aceste condiții nu pot fi

îndeplinite de bolile umane, în care prezența unor criterii imunologice mai puțin exacte este considerată sugestivă pentru implicarea autoimunității:

1) autoanticorpi circulanți și/sau locali specifici bolii, care pot sau nu pot fi direct relevanți pentru patogeneză, cum e cazul anticorpilor antireceptor acetilcolinic în miastenia gravis, respectiv antimitocondriali în ciroza biliară primitivă; 2) asocierea cu unul sau mai multe haplotipuri HLA și 3) prezența infiltratului limfocitar asociat cu expresia epitelială a antigenilor MHC din clasa II-a la sediul leziunii active. În cele ce urmează vom expune factorii imunității umorale și celulare susceptibili să intervină prin mecanisme autoimune în BII.

FACTORII IMUNITĂȚII UMORALE

A. **Autoanticorpi circulanți** specifici și nespecifici de organ au fost evidențiați la începutul studiului imunologic al RCH. Autoanticorpii *specifici de organ* (anticolon) s-au demonstrat la peste 50% din BII, dar prezența lor nu se corelează cu evolutivitatea, extinderea, vechimea leziunilor și nu sunt specifici (28, 121), constatări similare fiind făcute și de noi în RCH (38, 70). Cercetările din ultimii ani au reluat studiul autoanticorpilor în BII și au adus contribuții la descifrarea rolului lor. S-au descris autoanticorpi față de celulele epiteliului colonului, care se asociază strâns și specific cu RCH, dar nu cu BC. Auer și colab. (7) au evidențiat anticorpi (clasa IgG) specifici și citotoxici față de o linie de celule de cancer al colonului. Frecvența lor este redusă (1/3 din bolnavi), dar sunt absenți la sănătoși. Cu o tehnică ELISA s-a găsit un titru înalt al anticorpilor serici față de celulele izolate ale epiteliului colonului heterolog (șobolan) la 71% din bolnavii cu RCH, nivel neatins în BC, alte colonopatii și la sănătoși (91). Fiocchi ș.c. (64), folosind testul de citotoxicitate dependentă de anticorpi (ADCC) au evidențiat incidența mare a anticorpilor îndreptați față de un component al celulelor epiteliului colonului („epithelial cell-associated component", ECAC), atât în BII (73%), cât și la rudeniile de gr. I (57%), doar 27% la cei cu alte boli inflamatorii gastrointestinale și 10% cu diferite boli autoimune. Prezența și frecvența relativ mare la rudeniile asimptomatice ale BII sugerează că acești anticorpi pot prezenta un fenomen primar care predispune la leziuni ulterioare ale mucoasei intestinale.

Takahashi și colab. (211), cu o metodă ELISA, au evidențiat anticorpi circulanți față de o proteină specifică (40 kDa) extrasă din colonul uman normal și rectocolitic. Peste 70% din bolnavii cu RCH activă aveau valori ale densității optice deasupra limitei superioare constatate la cei în remisiune, BC, sindrome diareice și persoane sănătoase. Ulterior, folosind același material antigenic (proteina 40 kDa), Snook și colab. (203) au demonstrat o corelație evidentă a anticorpilor citotoxici anticolon cu activitatea bolii.

Anticorpii anticelule caliciforme intestinale descrişi în 1992 de Goischke şi Zilly (77) la bolnavii cu RCH sunt de fapt redescoperiţi, deoarece noi i-am evidenţiat în urmă cu 20 ani (38, 39, 67). Am semnalat că sunt fără specificitate de boală şi organ, fiind prezenţi şi în serul bolnavilor cu enterocolită cronică, iar serurile de la rectocolitici, care reacţionează cu celulele caliciforme ale colonului, dau reacţie pozitivă şi cu celulele omonime jejunale (fig. 89 şi 90).

Cercetarea autoanticorpilor la sediul leziunii se consideră că furnizează informaţii mai directe cu privire la prezumţia rolului patogen al lor, deoarece sângele periferic poate să nu reflecte fidel modificările locale. S-au extras din colonul tuturor bolnavilor cu RCH (nu şi BC) anticorpi IgG cu reactivitate specifică faţă de proteina 40 kDa, extractibilă din epiteliul mucoasei colonului, căilor biliare şi piele (localizări extradigestive frecvente în cursul RCH) (210). Anticorpii monoclonali obţinuţi faţă de 40 kDa se fixează pe membrana celulelor epiteliale colonice, având organospecificitate (37), ceea ce sugerează că proteina 40 kDa poate reprezenta un autoantigen în RCH. Cercetările ulterioare nu au confirmat însă existenţa autoanticorpilor fixaţi tisular în RCH (203).

Hibi şi colab. (91) au estimat frecvenţa anticorpilor anticolon (IgG) secretaţi de limfocitele circulante şi din mucoasa rectocolitelor, folosind



Fig. 89. Anticorpi anticelule caliciforme colonice. Imunofluorescenţă indirectă. Ser de la bolnav cu rectocolită hemoragică (×400).

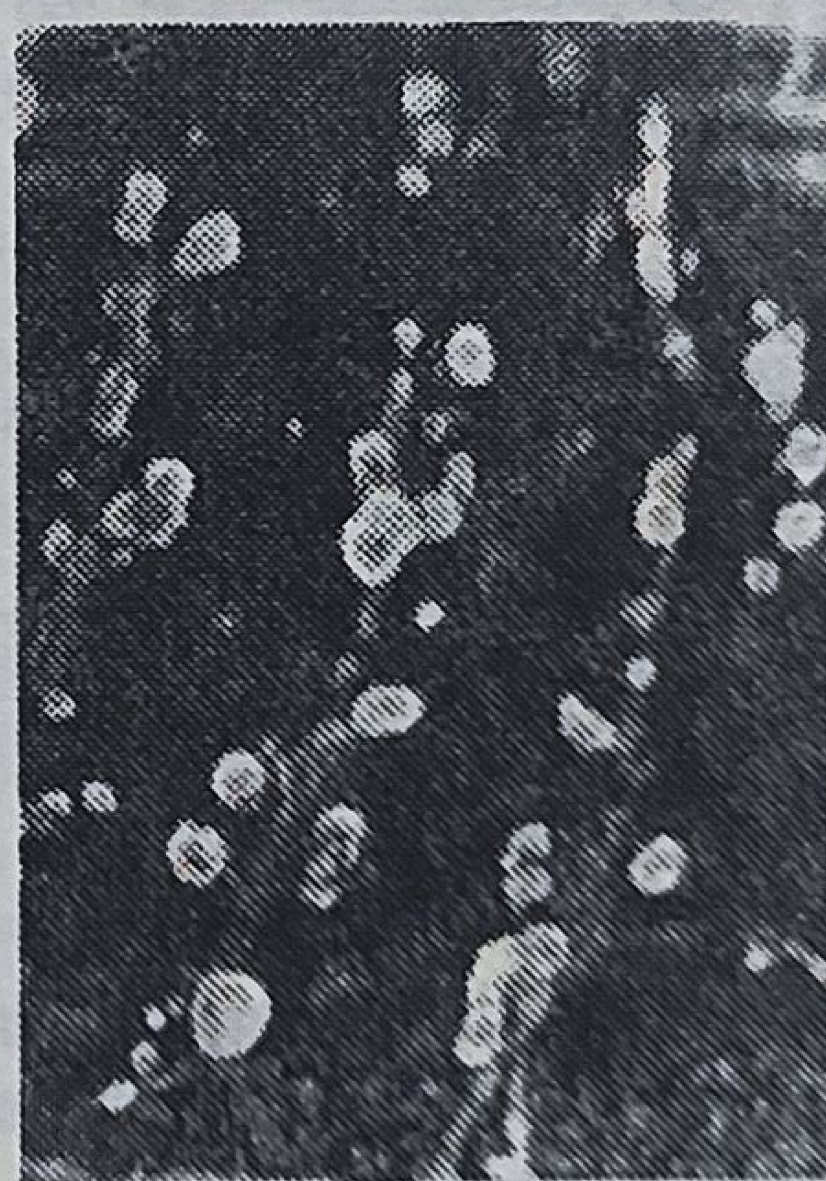


Fig. 90. Anticorpi anticelule caliciforme jejunale. Imunofluorescenţă indirectă. Ser de la bolnav cu rectocolită hemoragică (×400).

activarea policlonală a limfocitelor B cu virusul Epstein-Barr. Culturile limfocitare au produs două tipuri de anticorpi: unii care au reacţionat cu celulele caliciforme, alţii care s-au fixat pe celulele epiteliului intestinal. Producţia anticorpilor este semnificativ mai mare în mediul de cultură cu limfocite izolate din mucoasa rectocolitică, comparativ cu aceea indemnă.

Autoanticorpii *nespecifici de organ* prezintă şi ei un oarecare interes, ca în alte boli cu implicaţii imune. Anticorpii *limfocitotoxici* sunt prezenţi la 40% din BII, de patru ori mai frecvent ca la persoanele de control, 34% la rudenii şi, curios, o incidenţă superioară (50%) la soţiile şi soţii bolnavilor (121). Ei sunt îndreptaţi şi faţă de ARN-ul dublu catenar, atât la bolnavi, cât şi la membrii de familie, sugerând indirect prezenţa unor virusuri ARN la aceştia. Se pare că anticorpii antilimfocitari sunt secundari celor antivirusali, ca urmare a unei comunităţi antigenice. Deşi rolul patogen al lor nu este probat, prezenţa frecventă în boli autoimune ca lupusul sistemic şi artrita reumatoidă, în care sunt îndreptaţi faţă de limfocitele T supresoare, pune problema inactivării acestor celule şi în consecinţă, ar fi implicaţi în mecanismele bolii (121). Anticorpii faţă de *proteinele de stress* (sau „heat-shock proteins" HSP 60 şi HSP 90) au fost găsiţi recent în BII (97, 208, 222). Proteinele de stress sunt o familie de proteine foarte conservate în cursul evoluţiei speciilor, a căror sinteză este indusă printr-un stress celular. Recent, s-a demonstrat expresia exagerată a lor la nivelul mucoasei intestinale inflamate din RCH (226). Aceşti anticorpi se corelează cu cei antimycobacterieni observaţi la bolnavii cu BC şi la rudeniile acestora (222). Ei pot apare după infecţii bacteriene. Anticorpii anti-HSP 60 mycobacteriene sunt ceva mai frecvent găsiţi în RCH decât în BC, dar nu depăşesc 1/3 din bolnavi (97, 208). Nu se ştie dacă aceşti anticorpi sunt consecinţa unui răspuns primar sau secundar la unii autoantigeni modificaţi de agenţi infecţioşi (62).

Anticorpii *antiendoteliali,* ca şi anti-HSP, sunt frecvenţi în lupusul sistemic şi în diferite vasculite. În RCH se întâlnesc la 53–58%, în BC la 16–29%, fiind corelaţi cu activitatea bolii (169–207). Alte cercetări relevă aspecte contrarii: prezenţa la 82% din bolnavii cu BC, independent de stadiul clinic (28).

În BC sunt reactualizaţi anticorpii *anticitoscheletali* (anti-actină) (137) şi faţă de un *antigen pancreatic,* ultimii fiind markeri specifici pentru un subgrup de bolnavi (185).

Dintre autoanticorpii fără specificitate de organ, cei îndreptaţi faţă de *citoplasma neutrofilelor (ANCA)* ocupă un loc aparte şi suscită un interes crescând în ultimii cinci ani, atât din punct de vedere teoretic, cât şi practic (24, 27, 33, 43, 84, 87, 99, 151, 155, 161, 169, 173, 181, 186, 195, 216, 229). Ei au fost identificaţi în 1989 de grupul lui Targan din Los Angeles (50, 180, 194, 212), ca element distinctiv între RCH şi BC, fiind etichetaţi markeri ai RCH, ceea ce s-a confirmat în repetate rânduri. De la început s-a observat că în BII, imunofluorescenţa pe frotiu sanguin fixat cu etanol pune în evidenţă un tip particular de ANCA, perinuclear (p-ANCA), deosebit de cel difuz cito-

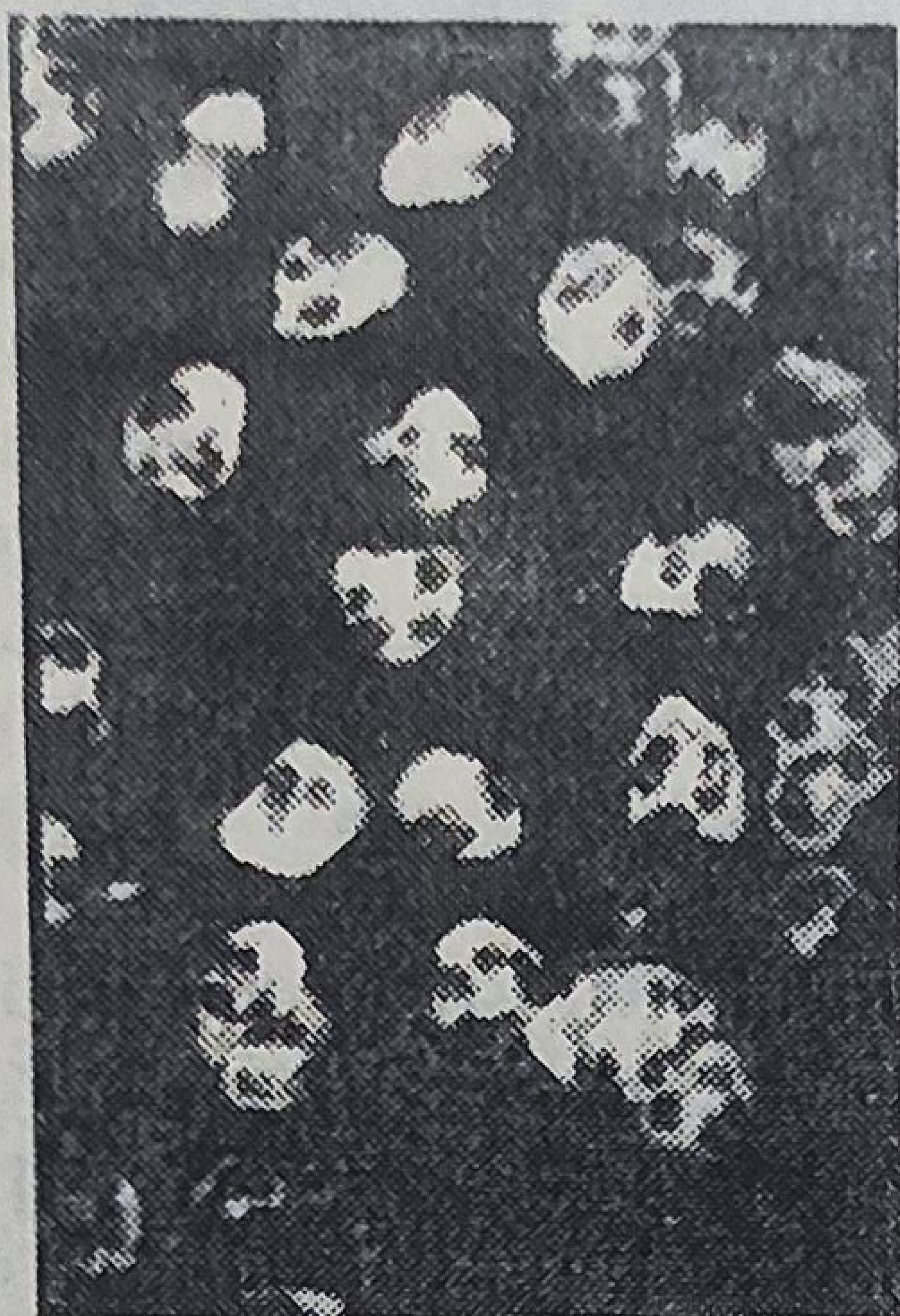


Fig. 91. p-ANCA. Imunofluorescență indirectă. Ser de la bolnav cu rectocolită hemoragică (×400).



Fig. 92. c-ANCA. Imunofluorescență indirectă. Ser de la bolnav cu granulomatoză Wegener (×400).

plasmatic (c-ANCA), caracteristic granulomatozei Wegener și altor vasculite (fig. 91 și 92).

Cercetările recente s-au orientat asupra specificității p-ANCA, posibilei utilizări a lor ca markeri ai activității bolii, naturii autoantigenilor, implicațiilor genetice și patogenetice (62).

Toate studiile sunt concordante în privința frecvenței semnificativ mai mari a p-ANCA în RCH față de BC, dar există diferențe destul de mari ale cifrelor procentuale, între 32–83% în RCH și 2–25% în BC. Cercetările începute la noi în 1992 (43) au demonstrat atât prevalența netă în RCH (73% față de 33% în BC), cât și titrul semnificativ mai mare la rectocolitici (fig. 93).

Deși unele investigații (24, 151, 181) nu au constatat o relație între prezența și titrul ANCA, pe de o parte și activitatea sau extinderea RCH, pe de altă parte, s-a semnalat că ei lipsesc în formele limitate la rect (rectite hemoragice) și cele ușoare (24, 43). Ca și alții (169, 173, 186), am găsit o prevalență a p-ANCA la bolnavii în fază activă a RCH, iar după tratamentul îndelungat și colectomie titrul lor scade.

Semnificația p-ANCA în BII este neclară. Se discută trei posibilități (169): 1) intervenția patogenetică primară; 2) apariția ca o consecință a bolii, cu rol în persistența leziunilor sau 3) un epifenomen fără influență asupra apariției și desfășurării procesului inflamator. Dacă admitem lipsa corelației cu

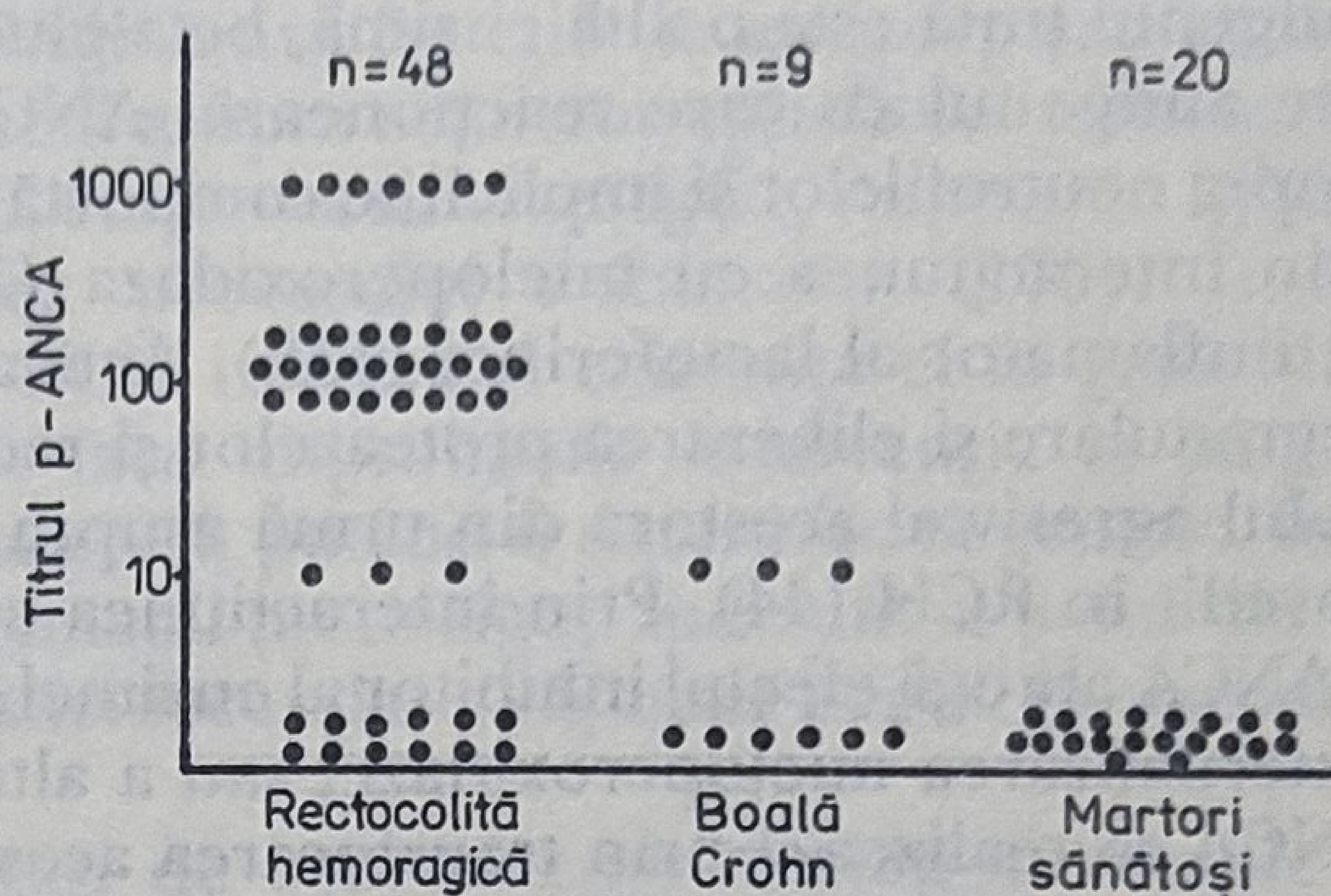


Fig. 93. p-ANCA în rectocolita hemoragică și boala Crohn, evidențiați prin imunofluorescență indirectă.

activitatea bolii și extinderea leziunilor, persistența după colectomie și marele grad de specificitate pentru RCH, este posibil ca p-ANCA să nu fie doar un epifenomen al inflamației colonului, ci să reprezinte o mărturie a anomaliilor de imunoreglare răspunzătoare de apariția bolii (194). Se ridică astfel întrebarea dacă p-ANCA reprezintă un marker genetic al susceptibilității la RCH. Frecvența de 21% la rudeniile bolnavilor și mai ales frecvența la un procent mai ridicat din rudeniile probanților p-ANCA-pozitivi (comparativ cu rudeniile bolnavilor p-ANCA-negativi), sunt argumente în favoarea afirmației anterioare (195). În 1993, Yang ș.c. (229) au demonstrat asocierea dintre prezența p-ANCA și HLA-DR2, în timp ce rectocoliticii fără anticorpi sunt cu precădere purtători ai alelei DR4. Această relație s-ar putea să fie dependentă de zona geografică în care a fost studiată (Japonia). Nu s-a efectuat un studiu similar în alte părți ale lumii, dar existența „extremelor" prevalenței chiar în aceeași țară (Germania) pune sub semnul întrebării relația p-ANCA-HLA: un studiu efectuat la Heidelberg găsește p-ANCA la 31,7% din rectocolitici (181), în timp ce la Tübingen s-a înregistrat cea mai mare frecvență, 83% (186).

Fără a putea exclude cu certitudine implicațiile genetice ale p-ANCA, este verosimil ca prevalența lor diferită să fie explicată de factori tehnici, cum este fixarea substratului celular (polimorfonuclearele), fie cu etanol, metanol, formol sau acetonă. Pe de altă parte, s-au folosit și metode de determinare diferite (imunofluorescența, ELISA). În ultimii ani s-a stipulat standardizarea metodei de evidențiere a ANCA: imunofluorescență indirectă pe frotiu de polimorfonucleare fixate cu etanol.

ANCA pot fi incriminați în patogeneza leziunilor inflamatorii din RCH, prin impactul cu celula țintă: leucocitul neutrofil. Antigenul specific pentru p-ANCA din RCH nu a fost identificat cu certitudine (99). Unele cercetări au semnalat că reacționează cu mieloperoxidaza (49), altele cu catepsina G (84), dar mai frecvent cu lactoferina sau lactoperoxidaza (99,155), ultimii doi cu

frecvenţa cea mai mare, 68%, respectiv 50%. Mai recent, s-a sugerat că autoantigenul ţintă este o altă enzimă, beta-glucuronidaza (143). Indiferent care este antigenul cu care reacţionează, ANCA exercită o acţiune activatoare asupra neutrofilelor şi implicit se comportă ca un mediator proinflamator, fie prin interacţiunea cu mieloperoxidaza (105), fie prin blocarea efectului antiinflamator al lactoferinei (155). Activarea neutrofilelor este urmată de degranulare şi eliberarea proteazelor şi radicalilor liberi ai oxigenului (61). Rolul agresiv al acestora din urmă asupra mucoasei intestinale este recent dovedit în RCH (44). Prin interacţiunea cu mieloperoxidaza extracelulară, p-ANCA abrogă efectul inhibitor al enzimei asupra activării neutrofilelor (61). Externalizarea mieloperoxidazei sau a altor antigeni cu care reacţionează ANCA se realizează prin translocarea acestora sub acţiunea TNF-alfa (58). Această citokină proinflamatoare argumentează totodată acţiunea de stimulare a aderenţei neutrofilelor la endotelii, exercitată de ANCA (105). În privinţa adresabilităţii ANCA faţă de lactoferină, prin fixarea ei de către anticorpi, creşte cantitatea şi durata formării radicalilor hidroxil de către granulocite, fiind împiedicată activitatea antiflogistică a proteinei fixatoare de fier de la suprafaţa mucoasei intestinale şi din secreţii (19).

Alţi anticorpi, circulanţi, faţă de antigeni exogeni, îndeosebi alimentari, au fost descrişi recent în BII. Anticorpii faţă de cinci *proteine din lapte* de vacă sunt prezenţi atât în serul bolnavilor cu RCH cât şi cu BC (110). Titrurile înalte par a fi specifice şi nu consecinţa unei activări policlonale. În RCH aparţin cu deosebire clasei IgG şi IgM. În BC se remarcă o bună corelaţie între activitatea bolii şi titrul anticorpilor din clasa IgG şi IgA. Anticorpii anti-*Saccharomyces cerevisiae* (75, 116) sunt găsiţi şi la gemenii monozigoţi cu BC, dar nu cu RCH. Nu sunt specifici bolii, deoarece se constată şi în boala coeliacă.

B. **Imunoglobulinele/anticorpii din mucoasa intestinală** suscită o atenţie deosebită în BII, mai ales de când s-au identificat subclasele IgG şi IgA. În condiţii normale, în corionul mucoasei intestinale domină limfoplasmocitele care produc IgA. IgAs, rezultat din cuplarea dimerului IgA cu glicoproteina sintetizată de celulele epiteliului mucoasei („component secretor", SC), reprezintă „prima linie" de apărare faţă de antigenii bacterieni şi alimentari endoluminali (40). În BII creşte mult numărul celulelor producătoare de IgG şi cantitatea de IgG secretată depăşeşte de 30 ori nivelul normal (9, 119, 121, 131, 188, 219, 228). Celulele mononucleare intestinale izolate şi cultivate *in vitro* produc cantităţi sporite de IgG, atât în RCH activă cât şi inactivă. În BC creşte foarte mult şi producerea IgM. În RCH predomină IgG1, în BC, IgG2 (6, 18, 89, 108, 175).

Deoarece în unele boli autoimune s-a observat hiperproducţia IgG1, s-a speculat că această subclasă de imunoglobuline ar contribui la instalarea

leziunilor locale din RCH (122). Este dificil de apreciat implicația IgG în patogeneza BII. Această imunoglobulină are funcție de anticorp sau autoanticorp? Exercită vreo acțiune directă asupra celulelor epiteliului mucoasei intestinale? Atât în RCH, cât și în BC, creșterea sintezei IgG1, respectiv a IgG2 este proporțională cu intensitatea procesului inflamator (175). Însă persistența hipersecreției IgG1 în RCH inactivă și existența ei la gemenii monozigoți sănătoși ai bolnavilor, face improbabilă intervenția ei patogenetică (cel puțin directă) în această BII, putând fi determinată genetic. În schimb, lipsa modificărilor IgG la gemenii monozigoți indemni ai bolnavilor cu BC face plauzibilă ipoteza anomaliei secundare, câștigate a IgG2 în această afecțiune (62).

Totuși, depunerea IgG1 alături de componenții activați ai complementului (C1q, C3b, C4c, C5b-9) la nivelul zonei apicale a epiteliului intestinal din RCH și absența IgG1, C1q, C4c în BC (86) nu poate fi trecută cu vederea. Deoarece IgG1 este activator mai puternic al căii clasice a complementului, iar IgG2 reprezintă răspunsul anticorpic principal față de antigenii bacterieni, se presupune că în RCH se produce o comutare a reacției antibacteriene benefice, de tip IgG2, într-una antiepitelială, malefică, de tip IgG1, cu amorsarea consecutivă a cascadei complementului. Mecanismul acestei devieri ar fi „molecular mimicry" și „hit-and-run", IgG devenind din „a doua linie" de apărare a mucoasei intestinale (prin anticorpii IgG2), prima ei agresoare (prin anticorpii IgG1). Creșterea sintezei IgG2 în BC ar reprezenta un răspuns imun față de antigenii bacterieni, dar nu suficient pentru a anula inițierea unui proces inflamator-infecțios cronic (120).

Comportamentul IgA și al limfoplasmocitelor care o produc este invers celui al IgG, raportul IgA/IgG fiind răsturnat. Cercetările noastre de imunofluorescență semicantitativă au fost printre primele (1972–1973) în acest sens și au relevat totodată deficitul concomitent al IgA și SC din mucoasa inflamată a bolnavilor cu RCH activă (38, 40, 68, 69). Aceste observații ne-au condus la elaborarea conceptului patogenetic al „deficitului local selectiv al IgAs" în RCH. Ulterior, studiile cantitative ale celulelor mononucleare și dozările IgA din mucoasa intestinală au adus confirmări atât în RCH (9, 121, 217, 228), cât și în BC (78, 123, 219, 228). Deficitul IgA s-a semnalat nu numai în mucoasa inflamată, ci și în mucoasa indemnă a colonului din rectita hemoragică (36) și a jejunului în ileocolita Crohn (131).

Cele două subclase ale IgA (IgA1 și IgA2) sunt produse în proporții variabile la bolnavii cu BII. În leziunile inflamatorii se constată augmentarea sintezei IgA1, reducerea IgA2 și diminuarea expresiei lanțului J (107, 119). Lanțul J este răspunzător de legarea monomerilor IgA, pentru formarea dimerilor sau polimerilor, singurii susceptibili de a cupla SC și de a fi transportați în lumenul intestinal, prin pasaj transepitelial (109). Pe de altă parte, acțiunea protectoare a IgA la nivelul mucoasei este dependentă de prezența SC, care

conferă dimerului stabilitate moleculară și rezistență la digestia proteolitică endoluminală. În condiții normale, în secreții, spre deosebire de ser, predomină IgA2 care constituie anticorpi mai stabili decât IgA1. Reducerea sintezei IgA2 în BII este răspunzătoare, alături de diminuarea expresiei lanțului J, de protecția precară a mucoasei intestinale prin IgAs, ceea ce favorizează leziunile inflamatorii (96).

În concluzie, pe baza modificărilor locale ale IgG și IgA, se poate postula următoarea secvență a evenimentelor în BII (121): ruperea barierei mucoasei prin deficitul IgA2, IgA dimeric și implicit a IgAs este însoțită de creșterea sintezei IgG, „a doua linie" de defensă; anticorpii IgG, fie prin mimetismul molecular, fie prin formarea locală a complexelor imune, pot contribui la apariția leziunilor inflamatorii intestinale. Desigur, ar fi de mare importanță să se cunoască antigenii împotriva cărora sunt îndreptați anticorpii din clasa IgG și IgA.

C. **Complexele antigen-anticorp** sunt o altă modalitate prin care autoanticorpii pot exercita un efect nociv asupra epiteliului mucoasei intestinale din RCH și BC. Ele au fost evidențiate în circulație la 20–60% din bolnavi, dar validitatea acestor constatări este discutabilă, deoarece metodele uzuale pentru evidențierea complexelor imune pot furniza rezultate fals pozitive în prezența unei alterări a proteinelor serice, cum se întâmplă în BII (209). Chiar dacă se admite că o minoritate din bolnavi au complexe imune circulante, se pune problema dacă ele sunt sau nu patogene. Depozitarea C5b–9 în muscularis mucosae și vasele submucoasei la bolnavii cu RCH (86) sugerează indirect prezența unor complexe imune care induc vasculita. Deoarece aceasta nu este obișnuită în BII, intervenția complexelor imune pare puțin probabilă. Totuși, complexele imune circulante sunt incriminate în apariția manifestărilor extraintestinale din BII (35), iar mai recent (8) a fost readusă în discuție participarea lor în producerea leziunilor din colita cronică experimentală prin injectare de complexe imune preformate. Ea s-a realizat la șobolani în prealabil imunizați cu o sușă de E. coli (pentru obținerea anticorpilor care reacționează încrucișat cu mucoasa intestinală) prin iritarea topică cu formol, urmată de administrarea i.v. a complexelor imune. Întrucât boala experimentală nu se poate transpune fără discernământ la om, se așteaptă alte cercetări care să aducă argumente mai plauzibile pentru participarea complexelor imune în patogeneza BII.

D. **Complementul** activat este unul dintre mecanismele efectoare majore ale sistemului imun. S-a propus un rol patogenetic al unor componenți ai complementului, dar natura implicării lor în BII nu este încă precizată. Trei produși ai activării complementului pot interveni în răspunsul inflamator de la nivelul mucoasei intestinale. C3b, C3a și C5a (121). Primul

are un rol important în fagocitoză, ceilalţi sunt numiţi şi anafilatoxine, deoarece produc activarea leococitelor, degranularea mastocitelor şi creşterea permeabilităţii vasculare. C5a este şi un puternic factor chemotactic pentru neutrofile. Atât sinteza, cât şi catabolismul C3 sunt augmentate în RCH şi BC, sugerând o stare de puternică activare a complementului, iar nivelul seric ridicat al C3a în BC indică hipercatabolismul C3, deci activarea cascadei complementului (3). În ce priveşte C5a, datele sunt contradictorii. C5 iniţiază calea care generează complexul terminal C5b-9 sau TCC, depus în mucoasa intestinală, aşa cum am amintit anterior.

Mucoasa lezată din BII este infiltrată cu limfocite, macrofage, plasmocite producătoare de imunoglobuline-anticorpi şi neutrofile. Acestea pot apare datorită activării locale a complementului (cum este chemotactismul leucocitelor), pe de altă parte pot contribui la activarea acestuia. Activarea complementului poate fi produsă de a. complexele realizate de anticorpii IgG sau IgM cu antigenii luminali sau epiteliali (calea clasică) sau b. prin amorsarea directă a C3 de către componenţi ai florei bacteriene locale (calea alternativă). Cercetările lui Halstensen şi colab. (85, 86) consideră că activarea complementului poate participa la patogeneza BII. Depunerea IgG1 şi a C3b + TCC pe suprafaţa epiteliului intestinal din RCH activă reflectă fixarea autoanticorpilor de antigenii marginii „în perie" şi o agresiune mediată de complement, urmată de detaşarea acestei porţiuni superficiale a mucoasei. În BC, la jumătate din bolnavi se găsesc depozite de C3b şi TCC, absenţa colocalizării IgG sugerând activarea complementului pe calea alternativă. În fine, în BII se produce o activare continuă a complementului în vasele submucoasei, cu implicaţii în apariţia trombozei vaselor mai mari şi a infarctelor multifocale consecutive, semnalate nu de mult la numeroşi bolnavi cu BC (220, 223).

FACTORII IMUNITĂŢII CELULARE

Participarea factorilor imunităţii celulare în BII a fost investigată de mai mult timp, pentru a demonstra îndeosebi intervenţia patogenetică a limfocitelor. În acest sens, mai recent, s-au efectuat cercetări cu tehnici evoluate care se bazează pe utilizarea anticorpilor monoclonali. Cu toate acestea, nici evaluările cantitative ale diferitelor tipuri celulare implicate, nici estimarea funcţiei lor nu au adus clarificările necesare pentru elaborarea unei concepţii patogenetice unitare. Ca şi în cazul factorilor imunităţii umorale, se poate vorbi de caracterul multifactorial interdependent al dereglărilor imunităţii mediate celular din BII.

A. **Subpopulaţiile şi subseturile limfocitare** au fost explorate atât în sângele periferic cât şi în mucoasa intestinală. În ce priveşte *limfocitele circulante,* cercetările mai vechi nu au fost edificatoare, îndeosebi în stabilirea raportului dintre diferitele subpopulaţii şi subseturi. S-a conchis că acestea nu sunt modificate semnificativ, în comparaţie cu persoanele sănătoase. În ultimii ani s-au acumulat unele contribuţii cu privire la funcţia limfocitelor din sângele bolnavilor. Din punct de vedere al funcţiei reglatoare, limfocitele T amplifică sau anulează răspunsul imun, acţiunea depinzând de predispoziţia lor genetică. În BC s-a demonstrat reducerea importantă a funcţiei supresoare a limfocitului T în inhibarea producerii imunoglobulinelor şi a autoreactivităţii (104). O altă capacitate funcţională a limfocitului T este supresia producerii anticorpilor de către limfocitele B sau supresia activităţii citotoxice a limfocitelor T care atacă specific antigenul. În această direcţie, datele sunt contradictorii şi nu se poate susţine un deficit al activităţii supresoare a limfocitului T din circulaţie la bolnavii cu RCH şi BC (106).

Limfocitele T din mucoasa intestinală au fost studiate cu ajutorul anticorpilor monoclonali. Hirata ş.c. (92) au constatat predominanţa intraepitelială a limfocitului T, atât în mucoasa normală cât şi aceea din RCH, cu un procent semnificativ mai mare (83%) al fenotipului $CD8^+$, limfocitele supresoare, faţă de $CD4^+$, celulele helper (17%). Limfocitele din corion sau lamina propria se comportă aproape la fel, adică domină subpopulaţia T (85%), însă pe seama $CD4^+$ (63%). Păstrarea unui raport $CD4^+/CD8^+$ constant dovedeşte că nu există un dezechilibru al celor două subseturi limfocitare în RCH, aspect asemănător fiind semnalat şi în BC (93, 100). Raportul $CD4^+/CD8^+$ de 2,4/1,46 găsit în Japonia (111), care se corelează cu activitatea RCH, pare să reprezinte o particularitate etnică subordonată antigenilor HLA (90). Mai recent, Dalton ş.c. (34) au observat diminuarea răspunsului imun la numeroşi antigeni (Mycobacterium, Kunin, derivaţi proteici purificaţi) al limfocitelor prelevate din sângele şi mucoasa bolnavilor, dar aceasta nu poate susţine că antigenii respectivi joacă un rol etiologic în BII.

Intraepitelial şi în corion, limfocitele B sunt absente sau mult reduse ca număr, atât la sănătoşi cât şi în RCH (4). Predominanţa celulelor limfoplasmocitare non-T, observată în infiltratul inflamator din RCH şi BC, este realizată pe seama celulelor B imature ($CD38^+$) care se diferenţiază ulterior în plasmocite producătoare de imunoglobuline/anticorpi. Limfocitele B $CD5^+$, subpopulaţie circulantă corelată cu sinteza autoanticorpilor, sunt reduse numeric în BII, îndeosebi în faza de activitate, ceea ce sugerează că nu au un rol patogenetic direct (144).

B. **Citotoxicitatea mediată celular** este investigată de mai mulţi ani, dar datele obţinute nu sunt concordante şi convingătoare. Pe baza cunoştinţelor actuale, în BII se incriminează două căi care pot duce la apariţia leziunilor

citotoxice mediate celular (213, 214) 1. Calea directă sau autoimună este specifică, fiind generată de răspunsul imun la un antigen al celulelor epiteliale, modificat sub acțiunea unui agent exogen sau la un antigen epitelial normal, față de care s-a produs o perturbare a toleranței imune; recunoașterea antigenului ca „non-self" se face de către limfocitele T citotoxice, în prezența moleculelor MHC sau direct de către diferite celule efectoare, cum sunt limfocitele T, celulele „natural ucigătoare" (NK) și NK activate de limfokine. 2. Calea indirectă și nespecifică, care reprezintă ipoteza „spectatorului nevinovat" (innocent bystander) se bazează pe un defect al imunoreglării; urmat de un lanț de evenimente imunologice nocive realizate prin eliberarea unor factori solubili citotoxici de către celulele imunocompetente (v. factorii răspunsului imun aberant).

Mai multe cercetări s-au ocupat de citotoxicitatea mediată celular în BII, atât cu celule din sângele periferic, cât și din mucoasa intestinală, dar până astăzi nu s-a identificat o anomalie specifică a funcției citotoxice la acești bolnavi (62). La început s-a incriminat *citotoxicitatea celulară dependentă de anticorpi (ADCC)*. O formă particulară de ADCC a fost demonstrată de Shanahan ș.c. (192) *in vitro*: citotoxicitatea celulară antigen-specifică indusă de anticorpi. Limfocitele din corion pot realiza o ADCC mediată de anticorpii anti-CD3, indusă limfocitelor CD8 prin relația încrucișată dintre celulele efectoare (limfocitele T) și celula țintă (epiteliul intestinal), așa încât anticorpii anti-CD3 se fixează de receptorul limfocitelor (TcR), pe de altă parte de receptorii Fc ai celulei țintă. Deși multe studii au pus pe prim plan această eventualitate, este controversat dacă limfocitele izolate din mucoasa inflamată a bolnavilor cu BII pot media ADCC (189).

Celulele NK și activitatea citolitică exercitată de ele s-au studiat în sângele periferic și mucoasa intestinală. Numărul lor în circulație și mucoasă este similar la sănătoși și în BII (5, 76, 145, 166), dar la copii cu BII în puseu, aceste celule lipsesc atât în epiteliul lezat, cât și în cel indemn (82). În 1992, Van Tol ș.c. (218) au demonstrat că celulele NK din mucoasa intestinală diferă de acelea din circulație. Deși este prezent un număr mare de celule citolitice în mucoasă, spre deosebire de sânge, sunt puține celule care exprimă CD16 și mai multe care exprimă molecula de adeziune CD56.

Numeroase cercetări recente au arătat că nu numărul, ci activitatea celulelor NK din circulație diminuă semnificativ în BII (88, 101, 129). Unele limfokine restaurează sau amplifică funcția celulelor izolate din sângele și mucoasa bolnavilor (82, 101, 141, 230). Observațiile amintite au incitat la transpunerea în terapie a activării celulelor NK prin limfokine. Activarea *in vitro* a celulelor NK și efectul terapeutic al interferonului gamma (IFN-gamma) sunt limitate în BC (101, 230). Opțiunea pentru IFN-alfa este justificată de multiplele avantaje ale acestei citokine: limitează expresia antigenilor MHC cl. II (nu o stimulează ca IFN-gamma) și amplifică expresia

antigenilor MHC cl. I, inhibă sinteza anticorpilor (nu o stimulează ca IFN-gamma) şi reacţiile de hipersensibilitate, este un stimulator puternic al celulelor NK, în comparaţie cu IFN-gamma (10). Într-adevăr, IFN-alfa-2a s-a dovedit foarte eficient în activarea celulelor NK şi ameliorarea clinică (82). La doi copii, unul cu RCH totală, altul cu BC, ambele rezistente la alte medicaţii, s-a administrat s.c. 3×1 MU/zi, trei zile pe săptămână. După 6–8 săptămâni s-a obţinut remisia completă, confirmată histologic, normalizarea numărului celulelor NK din mucoasa intestinală şi menţinerea acestora cu doze mai reduse de IFN, distanţate în timp.

Activarea celulelor NK din mucoasa intestinală sub acţiunea interleukinei-2 (IL-2) exogene este normală în BII, însă sinteza limfocitară a ei este semnificativ scăzută (103). Când celulele din corionul mucoasei bolnavilor cu BC sunt stimulate pentru a produce IL-2, efectul citolitic este comparabil cu grupul de control, în timp ce în RCH este semnificativ mai redus. Această constatare sugerează că în BC există un potenţial crescut de generare a celulelor NK activate după stimularea cu IL-2, în timp ce în RCH se observă o stare de hiporeactivitate la această citokină. Implicaţiile practice ale diferenţelor amintite sunt relativ recente: eficienţa terapiei cu cyclosporină A (stimulator al IL-2) în BC activă, dar mai puţin în RCH (106), ceea ce înseamnă corelaţia directă dintre nivelul activării celulelor NK prin IL-2 şi răspunsul terapeutic la imunosupresor. S-a presupus că generarea deficitară a celulelor NK activate din mucoasa intestinală este consecinţa sintezei locale reduse a IL-2, care ar putea contribui la apariţia cancerului în BII extinse şi îndelungate. Această interpretare nu a rezistat pentru că metodele noi au demonstrat creşterea producerii IL-2 de către celulele mononucleare din mucoasa intestinală inflamată a bolnavilor cu BC (140) (v. citokine).

Limfocitele T citotoxice au fost puţin studiate, funcţia lor fiind parţial cunoscută, atât în mucoasa intestinală normală, cât şi în aceea inflamată din BII (213). S-a demonstrat scăderea citotoxicităţii limfocitelor T din mucoasa intestinală în BII (118). Citotoxicitatea nespecifică mediată de mitogeni (lectine) este probabil distinctă de aceea a celulelor NK activate specific *in vivo* (190). Este posibil ca un subset de limfocite T citotoxice activate *in vivo* (probabil reactive faţă de antigeni ai mucoasei) să coexiste cu o funcţie citolitică depresată nespecific a limfocitelor T (probabil secundară bolii).

În ultimii ani s-a pus la punct o metodă de examinare indirectă a limfocitelor T citotoxice, chiar dacă în BII antigenul responsabil nu este cunoscut. Două componente funcţionale sunt demonstrate, una responsabilă de recunoaşterea antigenului şi alta (CD_3) care efectuează transmiterea semnalului. Ambele sunt realizate prin receptorul antigenic al limfocitului T, TcR (1). Stimularea ulterioară *in vitro* cu anticorpi monoclonali faţă de componentul CD_3 al acestui receptor va declanşa activitatea citolitică a limfocitului, dacă a fost în prealabil sensibilizat *in vivo* de antigen. Citotoxicitatea

indusă de anti-CD3 poate fi un model de citotoxicitate antigen-specifică. Interesant este că, în timp ce citotoxicitatea în sângele periferic este produsă de limfocitele CD8, Leu-7^{+}, în corion este realizată de celulele CD8, Leu-7–. Se furnizează încă o dovadă că limfocitele T din corion diferă de acelea din sângele periferic (157). Cu metoda amintită s-a demonstrat recent exagerarea funcției citolitice a limfocitelor T citotoxice izolate din sângele, mucoasa inflamată și neinflamată a bolnavilor cu BII (48, 193).

4. FACTORII RĂSPUNSULUI IMUN ABERANT

Participarea factorilor imunologici la patogeneza bolilor inflamatorii cronice nu este restrânsă la răspunsul de tip autoimun, în care sistemul imun apreciază în mod incorect antigenii proprii ca substanțe străine. Sistemul imun însăși poate fi dereglat și să realizeze un răspuns inadecvat față de un organ/țesut. O diversitate de observații au fost făcute cu privire la anomalia producerii anticorpilor, a activării limfocitelor T și complementului, a sintezei mediatorilor imunologici, cum sunt citokinele etc.

Limfocitele din corionul mucoasei intestinale sunt diferite de acelea din sânge, atât în ce privește fenotipul cât și nivelul activării, determinat de intimitatea cu celulele epiteliale ale organului țintă – intestinul (153). Deoarece aceste limfocite sunt expuse permanent la antigenii străini din lumenul intestinal, este important ca reacția la „provocare" să fie temeinică și limitată la „provocator", în așa fel ca epiteliului mucoasei să nu i se aducă prejudicii în timpul răspunsului imun. Când riposta limfocitară este necontrolată (hiperreactivitate), se poate produce lezarea mucoasei, cum se întâmplă în BII (189). Recent, Evans ș.c. (57) au observat că activarea limfocitelor T din corionul mucoasei intestinale induce proliferarea celulelor epiteliale din cripte și depleția celulelor caliciforme în culturi de colon fetal. Este o reproducere *in vitro* a ceea ce se petrece morfopatologic în RCH.

Ipoteza „spectatorului inocent" implică existența unui defect al reglării imunității de la nivelul mucoasei intestinale, care duce la un răspuns necontrolat față de antigeni exogeni. Consecința este apariția celulelor efectoare în mucoasa intestinală, sursa eliberării citokinelor și factorilor chemotactici, urmându-le recrutarea celulelor inflamației acute (neutrofile, eozinofile, mastocite). Acestea din urmă eliberează mediatori adiționali ai inflamației, ca metaboliții acidului arahidonic și radicalii liberi ai oxigenului, care amplifică răspunsul inflamator și produc leziuni locale prin mecanisme nespecifice.

O serie de observații recente furnizează argumente în favoarea rolului central al limfocitelor activate și a produșilor lor de sinteză (citokine) în amorsarea lanțului de evenimente care culminează cu lezarea celulelor epiteliului intestinal din BII.

A. **Activarea limfocitelor T și markerii ei.** Una dintre cele mai pertinente observații făcute în cursul studiului celulelor imunocompetente din BII și care poate contribui la derularea mecanismelor patogenetice din mucoasa intestinală este hiperactivarea limfocitelor T. În ultimii ani se preferă termenul de activare care este opusul noțiunii de celule în repaus (resting cells).

Celulele mononucleare din corionul mucoasei intestinale normale sunt într-o stare de activare, zisă intermediară, comparativ cu celulele omonime din sânge (124). În BII se constată o activare suplimentară a limfocitelor intestinale (T și B) și apariția limfocitelor activate în sângele periferic, așa cum o demonstrează apariția markerilor activării pe suprafața celulelor circulante (166).

Limfocitele pot fi activate prin diferite mecanisme. Activarea specifică prin antigeni este dependentă de conlucrarea dintre ei și *receptorii limfocitelor T (TcR)*. Se cunosc două clase distincte de TcR, ambele fiind heterodimerii a două gene. Cel mai comun este heterodimerul alfa, beta, mai puțin comun heterodimerul gamma, delta. Mult mai bine reprezentați în mucoasa intestinală (îndeosebi compartimentul intraepitelial) sunt heterodimerii gamma, delta. Culvelier ș.c. (32) au cuantificat proporția celor două clase de TcR în mucoasa intestinală a bolnavilor cu RCH și BC, precum și în spondilartropatii. Ei au constatat o creștere a populației limfocitelor care exprimă pe suprafață TcR alfa, beta, în timp ce TcR gamma, delta nu se modifică. Constatarea sugerează că limfocitele TcR alfa, beta pozitive pot să joace un rol important în activarea limfocitelor T din mucoasa intestinală.

Studiile pe culturi celulare de jejun fetal uman au demonstrat că activarea limfocitelor T prin anticorpi monoclonali față de componentul CD3 al TcR determină o enteropatie severă (125). Leziunile constau din atrofie vilozitară și hiperplazia celulelor din criptele glandulare, observate și în mucoasa adiacentă ulcerațiilor aftoase din BC, modificări care ar putea avea același substrat imunologic: activarea limfocitelor T (56). În BC, limfocitele izolate din biopsii endoscopice realizează un răspuns proliferativ intens la diferiți antigeni bacterieni și foarte slab dacă provin din corionul mucoasei normale (158). Se presupune că la nivelul leziunilor se află limfocite T care răspund anormal la antigenii bacterieni deoarece este absent blocajul activării prin complexul TcR–CD3 (96). Răspunsul anormal la antigenii bacterieni ar putea avea un rol patogenetic, demonstrat de participarea fluxului fecal la apariția recidivelor din BC după anastomoză ileo-colică (174).

Raedler ș.c. (164, 165, 167) au studiat expresia antigenilor de activare T9 și HLA-DR pe suprafața limfocitelor sanguine și tisulare la bolnavii cu BC.

Astăzi se ştie că antigenul T9 se confundă cu *receptorul transferinei,* TfR (OKT9 sau CD71). Există un mare număr de limfocite T (predominant $CD4^+$) care exprimă aceşti markeri de suprafaţă în faza activă, în timp ce în acalmie şi la sănătoşi doar o mică subfracţiune de limfocite este pozitivă pentru T9 şi HDL-DR. S-a remarcat o bună corelaţie între comportamentul limfocitelor sanguine şi cele din mucoasa intestinală inflamată. Numărul celulelor HLA-DR+ se corelează cu acela al limfocitelor care exprimă antigenul T9. Constatări similare au fost făcute de Fais şi colab. (60), studiind limfocitele corionului mucoasei din BII.

Prezenţa T9 pe imunocite sugerează că BC în puseu se caracterizează printr-o activare imună. Pe de altă parte, majoritatea limfocitelor T9+ din BC şi RCH (spre deosebire de alte boli) se caracterizează prin prezenţa receptorilor pentru IgA (Fc-alfa-R) şi par să inhibe producerea IgA de către limfocitele B. Acest subset de limfocite $CD71^+$ şi Fc-alfa-R este caracteristic bolnavilor cu BII, existând o specificitate de 88% şi sensibilitate de 92% pentru BC. Valoarea practică a observaţiei constă în relaţia evidentă dintre gradul de severitate a modificărilor histologice şi numărul limfocitelor CD71+. Ar fi interesant de investigat componentul solubil seric al TfR, formă trunchiată a TfR tisular, pe care noi l-am găsit în concentraţii mari la bolanvii cu lupus eritematos sistemic (227).

Receptorul interleukinei-2, IL-2R, mai precis lanţul p55 (CD25), este considerat şi valorificat recent ca marker al activării diferitelor tipuri de celule imunocompetente: limfocitul T, B şi macrofagul (200). IL-2R este o proteină exprimată îndeosebi pe suprafaţa limfocitelor T activate. S-a demonstrat expresia crescută a IL-2R la nivelul suprafeţei celulelor mononucleare circulante şi din mucoasa inflamată a BII (126, 182). Produsul solubil, sIL-2R, se află în concentraţii mari în supernatantul pieselor bioptice de la bolnavii în fază activă, existând o corelaţie cu intensitatea procesului inflamator (20, 127). Alţi autori (183) semnalează că numai celulele din mucoasa bolnavilor cu BC (nu şi RCH) secretă spontan *in vitro* cantităţi mari de sIL-2R.

Sursa precisă a sIL-2R în BII active este necunoscută, neprecizată, deoarece şi limfocitele B, macrofagele şi celulele NK exprimă pe suprafaţă IL-2R. Rata eliberării sIL-2R este proporţională cu expresia receptorului pe suprafaţa mononuclearelor, deci este legată de gradul de activare a populaţiei de celule care exprimă p55 (172). După stimularea cu mitogeni, în BC şi la sănătoşi producţia sIL-2R de către mononuclearele din corion creşte similar, în timp ce celulele omonime din mucoasa inflamată a bolnavilor cu RCH secretă semnificativ mai puţin sIL-2R. Stimularea cu fitohemaglutinină a celulelor mononucleare sanguine din BII determină creşterea mult mai mare a sIL-2R, comparativ cu persoanele sănătoase, nu numai la bolnavii în fază activă, ci şi la cei în acalmie, dar la nivele semnificativ mai mici (142).

sIL-2R este detectabil în serul bolnavilor cu BII, aşa cum o demonstrează cercetările începute în 1990 (v. 21, 26, 29). S-a constatat că 1) celulele mononucleare sanguine produc mai puţin sIL-2R decât cele din mucoasa inflamată; 2) în BC există o corelaţie pozitivă între sIL-2R seric şi producerea spontană de către mononuclearele intestinale, în timp ce în RCH, corelaţia este cu celulele respective din sângele periferic; 3) în BC, nivelele din ser sunt corelate cu severitatea şi extinderea bolii; 4) sIL-2R evoluează paralel cu alţi parametrii de laborator ai activităţii bolii (proteina C reactivă, VSH ş.a.); 5) sIL-2R nu se corelează cu alţi markeri ai activării limfocitelor sanguine; 6) recăderile la bolnavi asimptomatici sunt precedate de creşterea concentraţiei serice a sIL-2R.

Cercetările noastre (42) efectuate la 48 bolnavi cu RCH şi 9 cu BC au relevat creşterea semnificativă a sIL-2R seric faţă de sănătoşi ($p<0,001$, respectiv 0,01) (fig. 94). Concentraţia este semnificativ mai mare în faza de activitate faţă de acalmie ($p<0,05$) şi în formele severe şi extinse, faţă de cele uşoare şi limitate la rect ($p<0,02$).

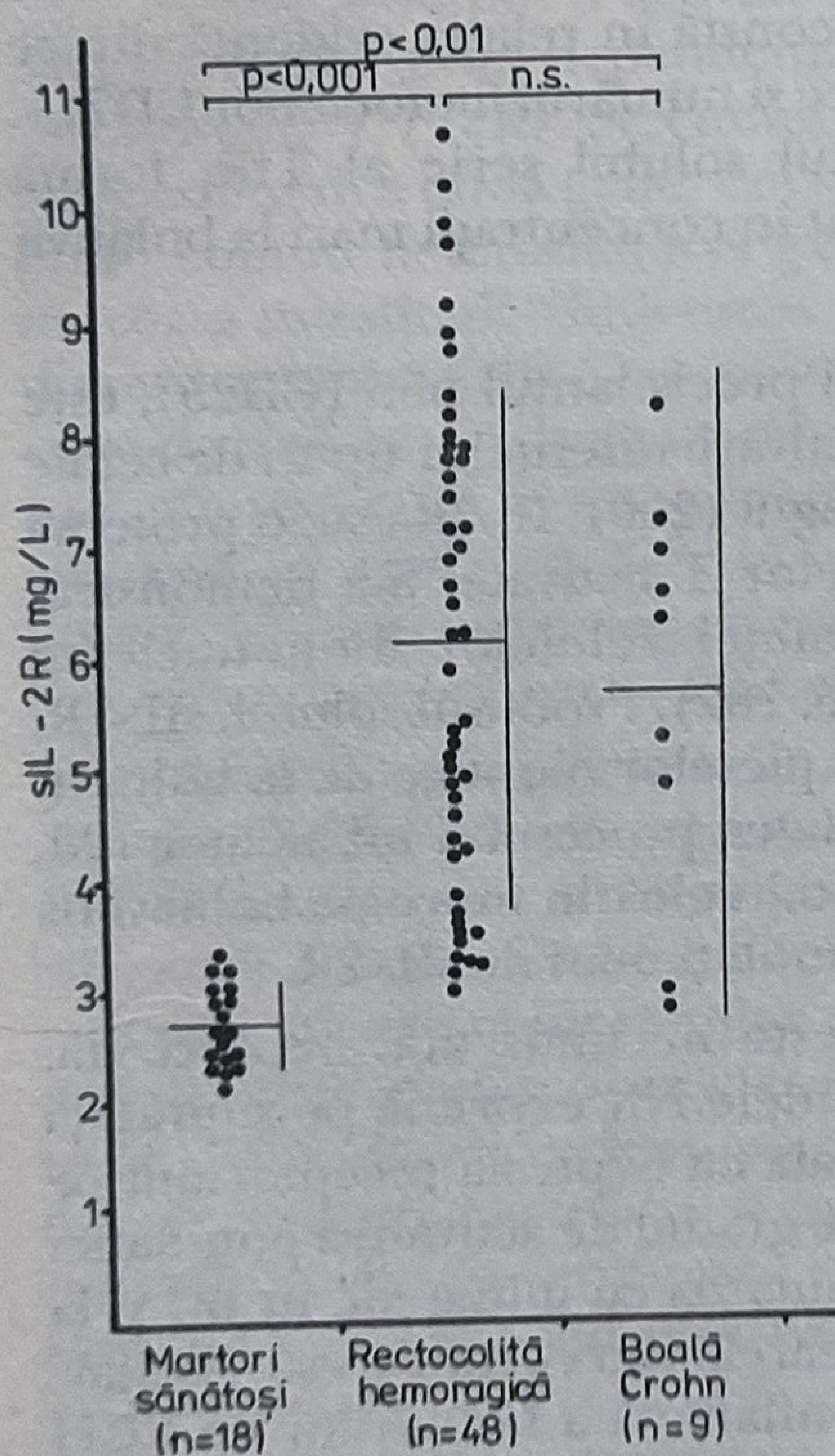


Fig. 94. Receptorul solubil al IL-2 în serul bolnavilor cu rectocolită hemoragică şi boală Crohn. Metoda ELISA.

Rolul precis al sIL-2R este necunoscut. El leagă (fixează) IL-2 şi astfel ar avea o acţiune de „limitator" al funcţiilor limfocitului T, dar această idee s-a dovedit neverosimilă, deoarece sIL-2R are o afinitate redusă pentru ligandul său natural, IL-2 (13).

Moleculele de adeziune (AM) joacă un rol important în inflamaţie şi constituie o arie de investigaţie care a făcut un progres rapid în ultimii ani. Ele au o funcţie crucială în migrarea, activarea şi diferenţierea celulelor limfoide. Infiltratul cu celule inflamatorii şi celule imunocompetente activate este caracteristic pentru RCH şi BC (100). O problemă de o deosebită relevanţă pentru patogeneza BII este adeziunea leucocitelor la endoteliul vascular, fenomen ce apare în faza precoce a imunoactivării, sub acţiunea AM, sau moleculelor de „priponire şi semnalizare" (231).

Adeziunea este o condiţie esenţială pentru migrarea celulară transen-

dotelială înspre ţesuturi, unde se realizează recunoaşterea antigenilor şi răspunsul imun faţă de ei. Procesul se efectuează în trei etape sau trepte (198): 1) aderarea fină sau fixarea celulelor circulante de endoteliu, sub acţiunea preponderentă a selectinelor, 2) aderarea puternică sub acţiunea integrinelor şi 3) migrarea mononuclearelor prin endoteliu către ţesutul înconjurător.

Din 1990, unele molecule implicate în adeziune au fost demonstrate în mucoasa intestinală umană normală, dar sunt limitate cunoştinţele noastre în BII (184). ICAM-1 (molecula de adeziune intercelulară, CD54) este puternic exprimată la nivelul intimei vasculare şi este implicată în aderarea polimorfonuclearelor neutrofile şi eozinofile la celulele endoteliale şi costimularea (alături de superantigeni, moleculele MHC cl. II-a sau anti-CD3) limfocitelor T aflate în repaus (198). Unul din liganzii pentru ICAM-1 este LFA-1 (lymphocyte function associated antigen), CD11a/CD18, membru al familiei integrinelor, prezent pe limfocite, macrofage şi polimorfonucleare. Medierea adeziunii celulă-celulă este importantă pentru numeroase funcţii leucocitare: interacţiunea cu endoteliul, proliferarea limfocitelor T şi B, citoliza mediată de limfocitele T (206). ICAM-1 şi LFA-1 sunt cele mai studiate AM în BII (59, 128). În ariile cu infiltrat inflamator intens fagocitele exprimă abundent ICAM-1 şi LFA-1, atât în BC cât şi în RCH. Alte cercetări semnalează doar în BC modificarea ICAM-1, iar pe endoteliul vascular, prezenţa ELAM-1 (endothelial leucocyte adhesion molecule) este intens exprimată în ambele BII active. Nu acelaş comportament îl are VCAM (vascular cell adhesion molecule) (112). În 1993, Schuermann ş.c. (184) au examinat mucoasa indemnă de la bolnavii cu RCH şi BC active şi au observat accentuarea expresiei vasculare a PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule, CD31), iar în BC o creştere a expresiei LFA-1 pe celulele mononucleare, proporţională cu intensitatea inflamaţiei mucoasei adiacente. Amplificarea interacţiunii trombocite-endoţeliu prin PECAM-1 ar contribui la apariţia microinfarctelor multifocale din BII (220, 223). Expresia exagerată a LFA-1 în mucoasa normală din BC poate fi consecinţa acţiunii anumitor antigeni endoluminali, dar este posibil ca celulele mononucleare LFA-1+ să fie stimulate la nivelul leziunii şi să reprezinte limfocite T cu memorie care au fost recirculate (184). Pentru ultima eventualitate pledează faptul că celulele T cu memorie exprimă mai intens LFA-1 decât cele nestimulate antigenic (196).

În 1993, Dippold ş.c. (47) au demonstrat concentraţii ridicate ale componentului solubil al ICAM–1 (sICAM–1) în serul bolnavilor cu BII, peste valorile maxime ale persoanelor sănătoase. Nivelele sunt mai ridicate în faza de activitate a bolii. Se aşteaptă ca cercetările ulterioare să elucideze semnificaţia apariţiei în circulaţie a acestei AM cât şi eventuala prezenţă a altora.

Factorul reumatoid (RF) apare ca o consecinţă a activării imunologice, fie prin stimularea de către antigeni, fie în urma unei stări morbide însoţită de activarea limfocitelor (124). RF (IgM şi autoanticorpii anti-Fab'2) are un

nivel crescut în serul bolnavilor cu BC (152). Creșterea a fost observată numai în fazele active ale bolii. În RCH nu s-au constatat devieri de la valorile normale. Celulele mononucleare din corionul mucoasei inflamate secretă cantități importante de anticorpi IgA anti–IgG și IgM anti–IgG (124). Producerea RF este dependentă de activitatea clinică a bolii, este normală sau scăzută în mucoasa indemnă adiacentă din BC și în aceea inflamată din RCH. Cercetările sugerează că sursa RF din serul bolnavilor cu BC este locală – mucoasa inflamată, iar în RCH nivelele locale nemodificate sunt concordante cu acelea normale din ser. În fine, observațiile amintite relevă rolul potențial al RF în imunoreglarea mecanismelor de apărare a gazdei sau în dereglările imunopatologice care stau la baza leziunilor din BC.

Neopterina reprezintă un marker al imunității mediate celular. Este produsă de monocite, macrofage și limfocitele T, după stimulare antigenică sau cu IFN–gamma. În ultimii ani, determinarea neopterinei din urină a devenit un mijloc foarte valoros pentru evaluarea activării limfocitare din diferite stări patologice, inclusiv BII (71). Nivelul ei este maxim în pusee, fiind corelat cu severitatea lor.

O probă indirectă pentru intervenția limfocitelor T activate în patogeneza BII o constituie efectul favorabil al administrării anticorpilor monoclonali *anti–CD4* la bolnavi cu puseu prelungit, neinfluențat de corticoterapie (55). Instalarea acalmiei este însoțită de depleția substanțială a celulelor CD4+ din circulație și a densității moleculelor CD4+ de pe suprafața limfocitelor T helper. Se așteaptă confirmarea acestor rezultate la un număr mai mare de bolnavi.

B. **Citokinele** (21, 29, 81, 115, 162, 214)

Citokinele sunt produse de variate imunocite în timpul răspunsului imun. Cele mai multe au funcții paracrine, dar multe acționează de asemenea autocrin și endocrin. Ele nu reacționează numai cu alte celule ale sistemului imun, ci afectează și funcțiilor celulelor neimune, ca cele epiteliale. Astfel, IFN–gamma și TNF–alfa pot induce *in vitro* expresia antigenilor MHC cl. II-a la nivelul celulelor epiteliale din zona inflamației intestinale. Ambele citokine sunt capabile să producă direct destrucția țesuturilor proprii, ca celulele beta-insulare pancreatice *in vitro*.

Până acum au fost descrise peste 20 citokine. Unele dintre ele induc creșterea celulară (factorii de stimulare a coloniilor de granulocite și macrofage, GM–CSF și G–CSF), altele sunt responsabile de diferențierea celulară (IL-2, 3, 4, 5, 7 și 8), iar altele includ așa-numitele citokine proinflamatoare (IL-1, TNF-alfa, IL-8). Unele citokine fac parte din mai multe categorii, cum sunt IL-6, IL-8 și IFN-gamma, care sunt imunoreglatoare dar au și efect proinflamator, iar CSF-ii promovează creșterea celulară și inflamația.

În BII se consideră că au un rol patogenetic IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alfa și IFN-gamma. Inflamația poate debuta cu „provocarea" exercitată de un antigen care activează macrofagele, pentru a elibera citokinele proinflamatorii IL-1, IL-8 și TNF-alfa. Acestea activează mai departe alte imunocite, amplifică adeziunea neutrofilelor și chemotactismul lor, promovează vasodilatația și implicit hiperpermeabilitatea vasculară. Imunocitele activate eliberează citokinele imunoreglatoare IL-2, IL-6 și IFN-gamma. Ele stimulează proliferarea și diferențierea limfocitelor. Celulele inflamatorii activate pot să producă ați mediatori ai inflamației care sunt răspunzători de leziunile tisulare, cum sunt radicalii liberi ai oxigenului, leukotrienele, factorul de activare plachetară, peroxidaze. Imunocitele sunt controlate de asemenea de către inhibitori ca: antagonistul receptorului IL-1, prostaglandina E2 și cortisolul endogen.

Principalele citokine imunoreglatoare sunt produse de limfocitele T helper: TH1 produc IL-2 și IFN-gamma, TH2 sintetizează IL-4, IL-5 și IL–10. Primele participă îndeosebi la reacțiile inflamatorii cronice, celelalte în alergii, sclerodermie, infecția cu HIV (137).

Citokinele proinflamatorii au fost studiate încă din 1985, fiind urmărită atât producerea lor de către celulele izolate din mucoasa intestinală cât și concentrația serică la bolnavii cu BII.

Interleukina-1 (IL-1) este produsă de monocite/macrofage (IL-alfa) și de numeroase alte celule (IL-1–beta): NK, limfocite B, endoteliale, fibroblaști ș.a. Este un activator autocrin pentru celulele NK, limfocitele B, celulele endoteliale etc. și paracrin pentru limfocitele T, leucocitele polimorfonucleare ș.a. IL-1produce hiperpermeabilitate vasculară, leucocitoză, scăderea concentrației plasmatice a Fe și Zn, creșterea adeziunii neutrofilelor și monocitelor de celule endoteliale, induce sinteza hepatică a proteinelor de fază acută și eliberarea mediatorilor inflamației (histamina, plasminogenul, factorul activator plachetar PAF, eicosanoizii, colagenaza, radicalii liberi ai oxigenului). Deasemenea, IL-1 joacă un rol crucial în activarea antigen-dependentă a limfocitelor T, prin furnizarea unui semnal costimulator esențial pentru aceste celule de a produce IL-2, TNF, IL-4, IL-5, IL-6 și IFN-gamma.

Nivelul de repaus al IL-1 produsă de mononuclearele din sânge în BII nu diferă de acela de la sănătoși. După stimularea cu lipopolizaharid, în BC crește îndeosebi în faza activă, dar semnificația statistică se menține față de sănătoși și în acalmia bolii. În schimb, în RCH nu se găsesc nivele crescute ale IL-1. Stimularea cu concanavalină A determină creșterea producției de IL-1, atât în BC cât și în RCH, fiind corelată cu activitatea bolii. În biopsiile de la bolnavii cu RCH și BC concentrația IL-1 este crescută, fără deosebire semnificativă între cele două boli, mai ridicată în fazele de activitate a lor. La animalele cu colită experimentală se constată nivele ridicate ale IL-1 în mucoasa inflamată. Mai recent, s-a determinat prezența ARN mesager al IL-1 prin reacția lanțului polimerazei (PCR) și nu s-au înregistrat diferențe între

biopsiile mucoasei de la bolnavii cu RCH și BC. Nivelele au rămas ridicate la 54% din subiecții cu BC în acalmie, pe când în RCH remisiunea se însoțește de normalizarea IL-1.

Deși nu există încă dovada unui efect patogenetic direct al IL-1 în BII, creșterea secreției sale poate contribui la inflamația cronică, prin inițierea și perpetuarea activării limfocitelor T și probabil prin efectul direct citotoxic asupra celulelor epiteliului intestinal.

Antagonistul receptorului IL-1 (IL-1Ra) este o glicoproteină care fixează competitiv receptorii IL-1 localizați pe suprafața limfocitelor T și B, macrofagelor, neutrofilelor și blochează efectele proinflamatorii ale acestei citokine. La iepuri cu colită experimentală prin mecanisme imune, pretratarea cu IL-1Ra diminuă inflamația și necroza, scăzând producerea prostaglandinei E2 și leucotrienei B4. Este interesant că administrarea IL-1Ra nu scade concentrația tisulară a IL-1, ceea ce sugerează că în BII poate exista un dezechilibru între IL-1Ra endogen și IL-1, în favoarea celui de-al doilea. Afirmația este sprijinită de cercetări recente care au demonstrat că ARN-ul mesager al IL-1Ra este semnificativ scăzut în raport cu nivelele ridicate ale ARN-ului mesager al IL-1 în biopsiile tisulare de la bolnavii cu RCH și BC. Pe baza acestor constatări, IL-1Ra se profilează ca un potențial agent terapeutic în BII. Sunt în curs de desfășurare trialuri clinice cu IL-1Ra recombinat genetic pentru evaluarea acestei posibile modalități de tratament în BII.

Interleukina-8 (IL-8) este o citokină proinflamatorie cu puternică acțiune chemotactică pentru polimorfonucleare. Produce și degranularea neutrofilelor, eliberarea radicalilor liberi ai oxigenului, mieloperoxidazei și lipooxigenazei, toate fiind expresia activării neutrofilelor. De altfel, IL-8 este numită și „neutrophil activating peptide”. Ea este produsă de macrofage, dar și de polimorfonucleare. Nivelul tisular crește în RCH activă dar nu în BC, iar în ser concentrația sa nu se modifică față de persoanele sănătoase.

Factorul de necroză tumorală (TNF-alfa) este o polipeptidă a cărei gene sunt localizate în regiunea MHC. S-a sugerat că asocierea unor tipuri de HLA cu unele boli imunologice inflamatorii este explicată de statusul secretor TNF-alfa. Macrofagele activate produc TNF-alfa, limfocitele T activate produc TNF-alfa și beta. TNF-alfa stimulează sinteza proteinelor de fază acută (sinergic cu IL-1), activează macrofagele, neutrofilele și celulele endoteliale, stimulează producerea eicosanoizilor, citokinelor IL-1, IL-6, GM-CSF, TGF, enzimelor destructive tisulare, lizează celulele epiteliului colonului *in vitro* (împreună cu IFN-gamma), induce expresia moleculelor de adeziune.

Unele studii au constatat creșterea secreției TNF bazale și stimulate, de către celulele mononucleare circulante ale bolnavilor cu BII. Altele găsesc o propolizaharid. Neconcordante sunt și rezultatele cercetării sintezei locale și concentrației serice a TNF. Datele cunoscute până acum nu permit stabilirea

rolului TNF-alfa și beta în BII. Conform ultimelor cercetări, se pare că dozarea TNF-alfa în supernatantul materiilor fecale poate constitui un marker fidel al inflamației intestinale. Recent, s-a găsit o corelație între nivelul ridicat al sintezei locale a IL-8 și TNF-alfa la bolnavii cu RCH, TNF fiind un posibil stimulator al producerii IL-8 în mucoasa inflamată. Tot în 1993 s-a efectuat un studiu imunoenzimatic pe secțiuni din mucoasă inflamată, unde se remarcă o creștere semnificativă a expresiei TNF-alfa și IL-1-beta la suprafața celulelor mononucleare din corion în ambele BII (148).

Citokinele imunoreglatoare au fost mult studiate în sângele periferic și mucoasa intestinală la bolnavii cu RCH și BC. *Interleukina-2 (IL-2)* este produsă exclusiv de limfocitele activate și funcționează ca un semnal obligator pentru creșterea limfocitelor B și T, prin interacțiunea cu receptorul specific (IL-2R) de pe suprafața acestora. IL-2 este un stimulator al proliferării și expansiunii clonale a tuturor populațiilor de limfocite T. Cei mai mulți autori sunt de acord că IL-2 joacă un rol important în procesele inflamatorii și poate avea funcție crucială în patogeneza BII. Totuși, mecanismele acțiunii ei și implicarea în cascada intricată a evenimentelor imunologice din RCH și BC nu este clar definită.

Producerea *in vitro* a IL-2 de către limfocitele circulante și tisulare este scăzută sau absentă în BII active, normală în remisiune. Așa cum am văzut, activitatea celulelor NK în mucoasa inflamată este nulă, dar ea se normalizează prin administrarea IL-2. Această observație a condus la ideea funcției deficitare a limfocitelor T în BII, datorită unei sinteze reduse a IL-2 de către celulele T CD4+. Eroarea acestei ipoteze a fost demonstrată de remisia BC active în timpul infecției cu HIV și efectul favorabil în unele pusee ale BC obținut de cyclosporina A, puternic inhibitor al sintezei IL-2. Mai mulți factori au fost invocați pentru explicarea reducerii sintezei *in vitro* a IL-2 din BII și alte boli imunologice inflamatorii cronice. Mai recent s-a demonstrat că IL-2 plasmatică, determinată cu metode ELISA, este peste valorile normale în stări clinice caracterizate printr-o exagerare a imunității mediate de limfocitele T, cum sunt rejetul grefei și unele boli cronice imunoinflamatorii (scleroza în plăci, polimiozita). În BII active crește semnificativ nivelul IL-2, atât în plasmă cât și în piesele bioptice proaspăt prelevate. Mai recent, cu ajutorul PCR s-a confirmat producerea excesivă a ARN-ului mesager al IL-2. S-au semnalat diferențe între BC și RCH. Astfel, în timp ce o cercetare găsește creșterea secreției IL-2 de către mononuclearele sanguine numai în RCH activă, metoda PCR demonstrează nivele ridicate doar în mucoasa intestinală din BC activă. Rezultatele obținute prin dozarea ARN-ului mesager par verosimile din punct de vedere al probei terapeutice: eficiența cyclosporinei A îndeosebi în BC (106).

Interleukina-6 (IL-6), produsă de macrofage și monocite, cu mici excepții, intervine ca și IL-1, stimulând producerea reactanților de fază acută.

Acționează indirect asupra limfocitelor T și B prin amplificarea răspunsului acestor celule la IL-2. Alături de monocite și macrofage activate, numeroase alte celule (endoteliale, fibroblaști) sunt capabile să producă IL-6 când sunt stimulate de alte citokine (IL-1, TNF-alfa). Concentrația serică a IL-6 este ridicată în fazele active ale BC, dar nu în RCH. Totuși, nivelele ei nu se corelează cu activitatea bolii sau concentrația proteinelor de fază acută. În alte studii, IL-6 reflectă activitatea BII și extinderea leziunilor și este concordantă cu proteina C reactivă. Sinteza tisulară este augmentată atât în RCH cât și în BC. Se remarcă o corelație cu activitatea bolii, intensitatea procesului inflamator. Mai recent, expresia ARN-ului mesager tisular al IL-6 este crescută în ambele boli active, dar în BC, spre deosebire de RCH, nu diminuă în acalmia bolii.

Interferonii sunt sintetizați de leucocite (IFN-alfa), mononucleare (IFN-gamma) și fibroblaști (IFN-beta). Sunt responsabili de diferențierea imunocitelor, celulelor epiteliale, precum și de expresia epitelială și macrofagică a antigenilor din cl. II-a MHC. Funcțiile diferitelor subclase de IFN sunt bine delimitate. Astfel, IFN-alfa și beta activează celulele NK și limfocitele B, având și acțiune antivirală, în timp ce IFN-gamma activează monocitele, macrofagele, limfocitele T supresoare și B, după cum amplifică expresia antigenilor MHC cl. II-a pe celulele epiteliale și macrofage și scade sinteza IgG1. Studiile efectuate cu celule mononucleare sanguine și tisulare sunt contradictorii în privința producerii IFN-gamma. Cercetările inițiale au demonstrat că local se eliberează cantități sporite de IFN-gamma în BC, în timp ce mononuclearele circulante secretă IFN-gamma numai după stimulare. Ulterior, s-a constatat nemodificarea sintezei spontane sau chiar scăderea ei în limfocitele sanguine și din mucoasa inflamată.

Deși IFN este un mediator-cheie în procesele inflamatorii, sunt necesare cercetări ulterioare pentru stabilirea rolului său în patogeneza și fiziopatologia inflamației mucoasei intestinale din RCH și BC.

Alte citokine. Factorii de creștere CSF și TGF-beta sunt citokine imunoreglatoare și proinflamatorii. Producția *in situ* a CSF este mult crescută în mucoasa intestinală din BII (162). Nivelul înalt este realizat îndeosebi pe seama *CSF al granulocitelor (G-CSF),* produs de macrofage, în timp ce *CSF al granulocitelor și macrofagelor* (GM-CSF), produs de limfocitele T, scade. Pe lângă activarea granulocitelor și macrofagelor mature, CSF stimulează chemotactismul și fagocitoza, induce ADCC, eliberarea superoxid-anionului (O_2–), leukotrienelor și prostaglandinelor (114). Hiperproducția CSF este indusă de IL-2 și se corelează cu amploarea influxului de neutrofile la nivelul leziunilor.

Factorul de transformare a creșterii (TGF) produce activarea și chemotactismul monocitelor, diminuă proliferarea limfocitelor și secreția IgG1, promovează sinteza și expresia moleculelor de adeziune, induce limfocitele T cu memorie și stimulează eliberarea altor citokine. În biopsiile mucoasei

intestinale din RCH inactivă se găsesc nivele crescute ale ARN-ului mesager al TGF-alfa, în timp ce TGF-beta se comportă foarte variabil (170). TGF-beta crește sinteza colagenului tip III de către celulele musculare și fibroblaști, fiind prezent în cantități mari în zonele stenotice intestinale din BC.

Interleukina-4 (IL-4) produce proliferarea și diferențierea limfocitelor B, crește producerea IgG1 și IgE, scade producerea IL-8. Ea modulează citotoxicitatea mononuclearelor din corionul mucoasei normale indusă de IL-2; în BII, activitatea inhibitorie a IL-4 se evidențiază doar în RCH și la sănătoși, nu și în BC (65).

Prezentarea citokinelor în grupe aparent bine delimitate ne depărtează de realitatea *in situ,* unde există corelații sinergice și antagonice în cadrul așa-numitei „rețele a citokinelor" (cytokine network) (11). Cel mai bine demonstrat sinergism este cel de tip proinflamator al IFN-gamma și TNF-alfa, primul amplificând expresia receptorilor celui de al doilea. Antagonismele pot creea variate profile. Se pot constitui corelații antagonice nu numai cu alte citokine, ci și cu unii receptori, diferite subseturi limfocitare etc. Câteva sunt mai importante:

1) IFN–gamma stimulează producerea citokinelor proinflamatorii de către monocite, în timp ce IL-4 și IL-10 o blochează; 2) IFN-gamma inhibă secreția colagenului de către fibroblaști, în timp ce IL-4 o augmentează; 3) IFN-gamma inhibă producerea IL-10 și invers; 4) IL-4 exogenă blochează sinteza citokinelor proinflamatorii prin amplificarea producerii IL-1Ra; 5) IL-10 și IL-4 inhibă sinteza citokinelor proinflamatorii, iar prin blocarea sintezei IFN-gamma, asociază efectului antiinflamator, unul imunosupresor; 6) IL-4 inhibă expresia IL-2R în culturi de celule mononucleare; 7) limfocitele CD8+ joacă un rol crucial în diminuarea expresiei IL-2R; 8) IL-10 are activitate inhibitorie asupra celor două subseturi de limfocite helper, TH1 și TH2; 9) IL-1Ra împiedică efectele proinflamatorii ale IL-1; 10) TGF-beta este un important reglator al acțiunii IL-1, prin inhibiția expresiei receptorului (IL-1R).

În încheierea capitolului privitor la citokine, ne asociem lui Targan (214) care afirmă că în menținerea procesului inflamator al mucoasei intestinale din BII, cu alte cuvinte cronicizarea, pot interveni trei eventualități: 1) eliberarea unor cantități crescute de citokine de către celulele care infiltrează corionul sau 2) capacitatea redusă de limitare sau contracarare a producerii și eliberării lor, sau 3) augmentarea inducerii receptorilor citokinelor.

Efecte farmacologice asupra citokinelor. Acidul 5-aminosalicilic (5-ASA), componentul activ al salazopirinei (salicilazosulfapiridină, SASP), reduce sinteza IL-1-beta de către mucoasa intestinală inflamată cultivată *in vitro.* SASP nu exercită același efect. În contrast, SASP inhibă producerea sau eliberarea IL-1 și IL-6 de către macrofage *in vitro*, în timp ce 5-ASA și sulfapiridina, independent, nu acționează în acest fel. SASP blochează producerea

IL-2 de către splenocite, în timp ce constituienţii ei, folosiţi separat, nu o blochează. Acelaş fenomen disociat s-a descris şi în privinţa TNF-alfa, a cărui fixare de receptorul specific este blocată de SASP, împiedicându-se producerea citokinei, în timp ce 5-ASA şi sulfapiridina nu exercită acest efect. În fine, o constatare histoimunochimică cu relevanţă terapeutică este reducerea expresiei epiteliale a HLA-DR (indusă de IFN-gamma) şi inhibiţia fixării IFN-gamma de receptorii lui, realizate de 5-ASA.

Glucocoticoizii, medicaţie de bază în BII active, au numeroase efecte asupra citokinelor: 1) inhibă producerea IL-1, interferând astfel cu activarea limfocitelor T; 2) blochează transcripţia genei IL–2 din limfocitele T şi fixarea IL-2 de receptorul ei, IL-2R; 3) inhibă producerea ARN-ului mesager al IFN–gamma din limfocitele T; 4) blochează expresia GM-CSF, 5) sinteza IL-6 şi TNF-alfa de către monocitele circulante din BC şi 6) activarea genei IL-8.

Cyclosporina A (CsA) a fost recent introdusă în tratamentul BII. Inhibiţia limfocitelor T, îndeosebi CD4+ şi a producerii IL-2 reprezintă cheia acţiunii imunosupresoare a CsA. Leziunile celulelor epiteliale, induse *in vitro* de către limfocitele T activate, sunt inhibate prin coincubarea cu CsA în mediul de cultură.

5. **FACTORII PSIHONEUROIMUNI** (6, 29, 191)

Observaţiile clinice au atras atenţia de mult timp asupra relaţiei dintre stress şi debutul BII sau apariţia recăderilor. La început, s-a conturat o teorie psihosomatică pură în patogeneza BII, care încerca să explice susceptibilitatea unor indivizi la acţiunea factorilor psihogeni cu caracter de stress. Studii mai recente privind integrarea neuroendocrină a funcţiilor sistemului imun al organismului uman au demonstrat posibilitatea instalării dereglărilor imunologice susceptibile să ducă la instalarea unor leziuni inflamatorii. Este prematur să se definească anume factori implicaţi în BII şi să se postuleze ipoteze patogenetice pe baza unor cercetări în plină desfăşurare. Neîndoios, această arie de investigaţii va aduce informaţii de valoare ştiinţifică şi practică în viitor.

În ultimii ani s-a acordat o atenţie deosebită comunicării bidirecţionale dintre intestin şi sistemul nervos central („axul intestin-creer") care este mediată de nuropeptide sintetizate şi eliberate de neuronii sensoriali eferenţi şi aferenţi, dar şi de unele celule (mastocite) care infiltrează mucoasa intestinală din BII. Somatostatina, peptidul vasoactiv intestinal şi substanţa P sunt abundente în ţesutul inflamat, având un rol imunoreglator care poate fi relevant pentru fiziopatologia BII.

Somatostatina inhibă proliferarea limfocitelor T, scade producerea imunoglobulinelor şi atenuează eliberarea citokinelor de către imunocite. Numărul celulelor care sintetizează somatostatina este diminuat în mucoasa intestinală din RCH şi BC, fiind în strânsă corelaţie cu intensitatea inflamaţiei din BC. Datorită proprietăţilor inhibitorii ale somatostatinei, scăderea sintezei ei este un factor permisiv pentru validarea acţiunii proinflamatorii şi perpetuarea leziunilor.

Peptidul vasoactiv intestinal (VIP) inhibă de asemenea proliferarea limfocitelor T, dar creşte citotoxicitatea celulelor NK şi producerea de imunoglobuline de către limfocitele B. Concentraţia sa este scăzută în mucoasa intestinală din BII. S-a încercat să se coreleze nivelul VIP cu cantitatea fibrelor nervoase enterice şi amploarea inflamaţiei mucoasei. Există o diminuare a fibrelor nervoase imunoreactive pentru VIP în corionul şi submucoasa bolnavilor cu BII, care se corelează cu severitatea inflamaţiei. Se consideră că reducerea conţinutului VIP în mucoasa intestinală din BII este consecinţa leziunilor inflamatorii care interesează fibrele nervoase.

Substanţa P exercită acţiuni proinflamatorii prin amplificarea proliferării celulare, chemotactismului, degranulării neutrofilelor, dilataţia şi permeabilitatea vasculară. Producerea excesivă în mucoasa inflamată a fost demonstrată recent şi incriminată în accentuarea şi perpetuarea inflamaţiei din BC şi RCH.

II. MECANISMELE EFECTOARE ALE INFLAMAŢIEI ÎN BII
(14, 21, 29, 44, 66, 122, 156, 199)

Leziunile tisulare din BII pot fi induse prin două categorii de factori, imuni şi neimuni.

1. FACTORII IMUNI

Sunt reprezentaţi de limfocitele T activate, autoanticorpii, complementul, macrofagele şi mastocitele. Mecanismele posibile de iniţiere a leziunilor şi factorii incriminaţi în acţiunea proinflamatorie au fost discutate

în capitolele precedente. S-a reținut faptul că leziunea autoimună directă, determinată de alterarea toleranței imune, nu exclude mutual acțiunea factorilor nespecifici, aparținând așa-numitului „innocent bystander”, ci dimpotrivă, alterarea imunoreglării materializate prin hiperactivarea limfocitelor T surclasează mecanismele autoimune în patogeneza BII.

O atenție aparte se acordă în ultimii ani *mastocitelor (MC)*, considerate astăzi celule imunocompetente. Importanța cunoașterii participării MC la producerea leziunilor mucoasei intestinale din BII rezidă în implicațiile terapeutice recente care vizează manipularea farmacologică a funcțiilor lor.

Se admite unanim că MC pot fi activate de numeroși factori, fiind implicate în multe procese patologice, ca inflamația, fibroza, infecția și neoplazia. De mai bine de zece ani s-a semnalat hiperplazia și activarea MC în mucoasa intestinală din RCH și BC. Ele se aglomerează aici prin proliferarea și diferențierea MC preexistente („rezidente”) sau/și chemotactism de la distanță, determinat de laminină. Chemotactismul poate fi amplificat prin stimularea MC de către antigeni. Aceștia amorsează secreția de către MC a mediatorilor, fapt observat numai în BII, nu și la indivizii fără aceste boli! Pe de altă parte, numeroase celule coexistente în mucoasa intestinală contribuie la activarea MC prin produși elaborați de macrofage, neutrofile, limfocite T și eozinofile. IL-3 și GM-CSF stimulează eliberarea histaminei din MC, în mucoasa intestinală din BII active existând cantități mari de histamină. La rândul lor, MC activate sintetizează IL-3 și GM-CSF, alături de alte citokine, incluzând IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IFN-gamma și TNF-alfa.

Intervenția MC în patogeneza leziunilor din BII este pe cale de a fi lămurită. Eliberarea mediatorilor sintetizați de MC contribuie la apariția numeroaselor modificări locale constatate în BII active. Astfel: 1) histamina produce vasodilatație, hiperpermeabilitate vasculară; 2) histamina, prostaglandina D2 și leukotrienele cresc secreția de mucus și lichide, produc contracția musculaturii netede; 3) TNF-alfa, factorul de activare plachetar (PAF), leukotriena C4 induc vasoconstricție cu necroză ischemică consecutivă a mucoasei; 4) factorii chemotactici, leukotriena B4, PAF, histamina și TNF-alfa amplifică recrutarea și activarea neutrofilelor și eozinofilelor, care participă activ la lezarea epiteliului mucoasei intestinale; 5) neuropeptidele amintite anterior alterează funcția vasomotorie și activitatea limfocitelor.

2. FACTORII NEIMUNI

Care contribuie la producerea leziunilor inflamatorii din BII nu pot fi disociați de cei imuni amintiți până acum, între aceștia existând interrelații strânse. În primul rând participă leucocitele neutrofile activate, cu produșii

lor toxici (radicalii liberi ai oxigenului, leukotriene, tromboxani) și alți mediatori. Neutrofilele sunt markeri histopatologici ai activității bolii. Cercetările efectuate cu granulocite marcate (^{111}In) au demonstrat orientarea lor dinspre circulație spre mucoasa inflamată din RCH și BC. Stimulii migrării sunt în principal trei: peptide bacteriene, componenți ai complementului și leukotriene.

Neutrofilele activate îndeosebi de lipopolizaharidele bacteriene, IL-1 și TNF, se degranulează, eliberând enzime lizozomale (catepsină, colagenază, gelatinază ș.a.), radicali libei ai oxigenului și mediatorii lipidici ai inflamației (eicosanoizi și PAF). Cei din urmă (leukotriena B4 și PAF) sunt la rândul lor activatori ai fagocitelor, sporind cantitatea de enzime lizozomale și radicali liberi ai oxigenului.

Creșterea activității elastazice leucocitare a fost demonstrată în serul bolnavilor cu RCH și BC, fiind corelată cu stadiul clinic (2).

Se știe că interacțiunea mediatorilor proinflamatori (citokine etc.) și produșilor bacterieni cu receptorii de pe suprafața neutrofilelor, duce la creșterea consumului de oxigen. Fenomenul se realizează prin activarea NADPH-oxidazei și este urmat de elaborarea unor cantități mari de *radicali liberi ai oxigenului* (RLO). Pe lângă hiperproducția de O_2^- și H_2O_2 derivat din acesta, neutrofilele secretă în mediul extracelular mieloperoxidaza (MPO), a cărei activitate crește de șase ori în mucoasa inflamată a bolnavilor în puseu și reflectă indirect producerea excesivă a acidului hipocloros (HOCl), pornind de la O_2^- și Cl^-. MPO catalizează oxidarea Cl^- de către H_2O_2, rezultând HOCl, cel mai puternic sistem citotoxic produs de neutrofile, de 100–1000 ori mai activ ca O_2^- și H_2O_2. HOCl lezează epiteliul mucoasei intestinale și matricea interstițială în mod indirect, prin inactivarea inhibitorilor proteazelor (îndeosebi ai elastazei), care sunt alfa$_1$–antitripsina și alfa$_2$–macroglobulina, concomitent cu activarea colagenazei și gelatinazei secretate de neutrofile. La producerea RLO participă și alte fagocite din mucoasa inflamată a intestinului. Astfel, macrofagele, abundente în infiltratul inflamator, pe lângă numeroasele implicații ca imunocite, intervin în agresiunea mucoasei și prin eliberarea unei cantități mari de RLO.

Actualmente există dovezi incontestabile cu privire la producerea excesivă a RLO în BII, atât de către mucoasa inflamată cât și de către celulele mononucleare sanguine. Chemiluminiscența, metodă indirectă de evaluare a producerii RLO, este augmentată în biopsiile mucoasei, proporțional cu amploarea procesului inflamator. În 1933, prin colorarea biopsiilor mucoasei cu nitroblue tetrazolium, s-a demonstrat că O_2^- este produs și de endoteliul vascular și epiteliul intestinal (150).

Eficiența terapiei cu glucocorticoizi și SASP reprezintă un argument indirect pentru intervenția RLO în producerea leziunilor mucoasei intestinale în RCH și BC. Cortizonicele, prin blocarea eliberării factorilor chemotactici,

inhibă infiltrarea cu polimorfonucleare și macrofage a mucoasei intestinale. Consecutiv, se reduce substanțial producerea RLO. SASP, prin 5-ASA, este epurator al O_2^- și $OH^·$, fapt dovedit recent prin evaluare directă cu metoda rezonanței magnetice de spin. Deasemenea, 5–ASA este un puternic inhibitor al MPO, răspunzătoare de formarea HOCl. Nu în cele din urmă, 5–ASA chelatează intens fierul, blocând astfel reacția Fenton, furnizoare de OH^-. În fine, epuratorii enzimatici ai RLO, cum sunt superoxid dismutaza (SOD) în BC și SOD+ catalază (Epurox, Inst. Cantacuzino, București) au dat rezultate satisfăcătoare în trialurile terapeutice ale grupului lui Emerit din Paris, respectiv ale noastre. Mai recent, blocarea producerii RLO de către allopurinol, dimetil–sulfoxid ș.a. s-a dovedit utilă în tratamentul și prevenirea puseelor de RCH (176).

Recent, se acordă un rol însemnat *oxidului nitric,* NO^- în BII (80). El este sintetizat de fagocite (neutrofile și macrofage) și celulele endoteliale, sub acțiunea NO^--sintetazei care, la rândul ei, este indusă de citokine, îndeosebi TNF, IFN–gamma și IL–I–beta. NO^- are acțiune toxică directă asupra celulelor epitelilale, prin eliberarea fierului intracelular, inhibiția funcției mitocondriale și a sintezei ADN.

Mediatorii lipidici ai inflamației (LIM) cuprind eicosanoizii și PAF, care contribuie la producerea edemului, hiperpermeabilității vasculare, stimularea chemotactismului, agregării și degranulării neutrofilelor. Produșii căii ciclooxigenazice a metabolizării acidului arahidonic – prostaglandinele –, deși sunt sintetizați în cantități crescute, nu au implicații în inducerea procesului inflamator al mucoasei intestinale din BII. În schimb, calea lipooxigenazei este răspunzătoare de numeroase efecte nocive.

Leukotrienele, îndeosebi LTB4, sunt puternici agenți chemotactici pentru neutrofile și produc hiperpermeabilitate vasculară. Concentrația LTB4 este mult crescută în mucoasa și exudatul inflamator din BII, fiind factorul chemotactic major pentru neutrofile, atât în RCH cât și în BC.

Factorul activator plachetar, PAF, este un mediator lipidic neoformat, provine din fosfolipidele membranale, ca și acidul arahidonic, în urma acțiunii fosfolipazei A2. Este sintetizat de celulele proinflamatoare stimulate: polimorfonucleare, eozinofile, monocite, trombocite, celule endoteliale. PAF produce chemotactismul, agregarea și activarea neutrofilelor, agregarea trombocitelor și eliberarea altor mediatori lipidici ai inflamației. Participă la formarea microtrombilor vasculari care creează ischemie și necroză. În BC, acești microtrombi sunt constatați frecvent, fiind incriminați în generarea leziunilor de ischemie-reperfuzie, furnizoare de cantități suplimentare de RLO și PAF. Efectele necrozante ale TNF, observate în condiții experimentale, asupra intestinului sunt mediate de PAF și prevenite prin utilizarea unui antagonist al receptorului PAF (46). Concentrația PAF este crescută în mucoasa intestinală din BII, dar nu se corelează cu gradul inflamației și activitatea bolii.

Este interesant de semnalat că în BC se constată concentraţii ridicate ale PAF şi în mucoasa indemnă (204). Nivelele mari din scaun, ca şi ale TNF-alfa, sunt un indicator fidel al intensităţii procesului inflamator intestinal şi al activităţii bolii (46).

Interacţiunea mediatorilor lipidici ai inflamaţiei cu citokinele constituie o preocupare actuală în toate procesele patologice în care sunt implicate aceste două grupe de substanţe, inclusiv BII. Prostaglandina E2 este inhibitoare a IL-1, acţionând sinergic cu antagonistul specific al ei, IL-1Ra. Deasemenea, contracarează efectele proinflamatorii ale TNF-alfa. Pe de altă parte, inhibiţia sintezei IL-1 de către PGE2 reprezintă un feed-back negativ de supresie a producerii IL-1, deoarece IL-1 este un puternic stimulator al sintezei PGE2. IL-2 este inhibată de PGE2. IL-4 suprimă nivelele ridicate ale TNF-alfa, IL-1 şi PGE2 din celulele stimulate cu lipopolizaharide bacteriene.

Produşii 5-lipooxigenazei (LT şi HETE) promovează sinteza TNF-alfa de către macrofagele activate. IFN-gamma stimulează producerea LTB4. LT cu PAF acţionează sinergic ca mediatori ai hiperpermeabilităţii vasculare induse de IL-1.

S-a demonstrat o acţiune sinergică între trombocite şi polimorfonucleare, ceea ce contribuie la formarea excesivă a RLO de către leucocitele activate. IL-1-alfa şi TNF-alfa eliberate din macrofage stimulează direct formarea RLO de către leucocitele polimorfonucleare.

BIBLIOGRAFIE

1. ACUTO O., REINHERZ E.L. – *The human T cell receptor. Structure and function.* New Engl. J. Med., 1985, 312, 1100–1111.
2. ADEYEMI E. *Circulating human leucocyte elastase in patients with inflammatory bowel disease.* Gut, 1985, 26, 1306–1311.
3. AHRENSEDT O., KNUTSON L., NILSSON B., NILSSON-EKDAHL K., ODLIND B., HELLGREN R. – *Enhanced local production of complement components in the small intestine of patients with Crohn's disease.* New Engl. J. Med., 1990, 322, 1345–1349.
4. ALLISON M.C., POULTER L.W., DHILLON A.P., ROUNDER R.E. – *Lymphocytoplasmoid cells are the predominant mucosal lymphoid cells in the infiltrates of severe ulcerative colitis and Crohn's colitis.* Gastroenterology, 1989, 96, A9.
5. ARATÓ A., SAVILAHTI E., TAINIO V.M., KLEMOLA T. – *Immunohistochemical study of lymphoplasmacytic infiltrate and epithelial HLA–DR expression in the rectal and colonic mucosas of children with ulcerative colitis.* J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 1989, 8, 172–180.
6. ARATÓ A., SAVILAHTI E. – *IgG3 and IgG4 cells are increased in active ulcerative colitis.* Digestion, 1990, 47, 35–41.
7. AUER I.O., GROSCH L., HARDÖRFER C., RÖDER A. – *Ulcerative colitis specific cytotoxic IgG-autoantibodies against colonic epithelial cancer cells.* Gut, 1988, 29, 1639–1647.
8. AXELSSON L.-G., AHLSTEDT S. – *Characteristics of immune-complex-induced chronic experimental colitis in rats with a therapeutic effect of sulphasalazine.* Scand. J. Gastroenterol., 1990, 25, 203–209.

9. BADR-EL-DIN S., TREJDOSIEWICZ L.K., HEATLEY R.V., LOSOWSKY M.S. – *Local immunity for defective secretory IgA production.* Gut, 1988, 29, 1070–1075.
10. BALKWILL F.R. – *Peptide regulatory factors: Interferons.* Lancet, 1989, 1, 1060–1063.
11. BALKWILL F.R., BURKE F. – *The cytokine network.* Immunol. Today, 1989, 10, 299–304.
12. BENNETT R.A., RUBIN P.H., PRESENT D.H. – *Frequency of inflammatory bowel disease in offspring of couples both presenting with inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1991, 100, 1638–1643.
13. BENTZEN K. – *Clinical significance of cytokines. Natural and therapeutic regulation.* Semin. Clin. Immunol., 1991, 3, 5–13.
14. BISSONNETTE E.Y., BENYON R.C., BEFUS A.D. – *Mast cells as targets for therapy of inflammatory bowel disease.* Can. J. Gastroenterol., 1990, 4, 285–288.
15. BONA C.A. – *Postulates defining pathogenic autoantibodies and T cells.* Autoimmunity, 1991, 10, 169–172.
16. BRAEGGER C.P., NICHOLLS S., MURCH S.H., STEPHENS S., MAC DONALDS T.T. – *Tumor necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation.* Lancet, 1992, 339, 89–91.
17. BRANDTZAEG P. – *Immunopathology of Crohn's disease.* Ann. Gastroentérol. Hépatol., 1985, 21, 201–210.
18. BRANDTZAEG P., BJERKE K., KETT K. ş.c. – *Production and secretion of immunoglobulins in the gastrointestinal tract.* Ann. Allergy, 1987, 59, 21–39.
19. BRITGAN B.E., HASSETT D.J., ROSEN G.M. ş.c. – *Neutrophil degranulation inhibits potential hydroxyl radical formation.* Biochem. J. 1989, 264, 447–455.
20. BRYNSKOV J., TVEDE N., VILIEN M., ANDERSEN C.B., BENTZEN K. – *Increased concentrations of interleukin 1 beta, interleukin 2, and soluble interleukin 2 receptors in endoscopical mucosal biopsy specimens with active inflammatory bowel disease.* Gut, 1992, 33, 55–58.
21. BRYNSKOV J., NIELSEN O.H., AHNFELT-RONNE I., BENTZEN K. – *Cytokines in inflammatory bowel disease.* Scand. J. Gastroenterol., 1992, 27, 897–906.
22. BULL D.M., IGNACZK T.F. – *Enterobacterial common antigen-induced lymphocyte reactivity in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1973, 64, 43–50.
23. BURKE D.A., AXON A.T.R. – *Adhesive Escherichia coli in inflammatory bowel disease and infective diarrhoea.* Br. Med. J., 1988, 297, 102–104.
24. CAMBRIDGE G., RAMPTON D.S., STEVENS T.R., McCARTHY D.A., KAMM M., LEAKER B. – *Anti-neutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: Prevalence and diagnostic role.* Gut, 1992, 33, 668–674.
25. CAMPBELL I.L., ISCARO A., HARRISON L.C. – *IFN-gamma and tumor necrosis factor–alpha cytotoxicity to murine islet of Langerhans.* J. Immunol. 1988, 141, 2325–2329.
26. CARUSO C., CANDORE G., CIGNA D., COLUCCI A., MODICA M.A. – *Biological significance of soluble IL–2 receptor.* Mediat. Inflamm., 1993, 2, 3–21.
27. COLOMBEL J.F., REUMAUX D., DUTHILLEUL P. ş.c. – *Antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease.* Gastroenterol. Clin. Biol., 1992, 16, 656–666.
28. COLOMBEL J.F., REUMAUX D., DESREUMAUX P., DUTHILLEUL P. – *Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin at auto-immunité,* In: Immunité et tube digestif. J.P. Galmiche, J.P. Revillard, M. Teule-Espié (éd.), John Libbey Eurotext, Paris, 1992, 145–155.
29. COMINELLI F., KAM L. – *Inflammatory mediators of inflammatory bowel disease.* Curr. Opin. Gastroenterol., 1993, 9, 534–543.
30. COOPER R., FRASER S.M., STURROCK R.D., GEMMELL C.G. – *Raised titres of anti-Klebsiella IgA in ankylosing spondylitis, rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease.* Br. Med. J., 1988, 296, 1432–1433.
31. COVER T.L., ABER R.C. – *Yersinia enterocolitica.* New Engl. J. Med., 1989, 321, 16–24.

32. CUVELIER C.A., DE WEVER N., MIELANTS H., DE VOS M., VEYS E.M., ROELS H. – *Expression of T cell receptor alpha, beta and gamma, delta in the ileal mucosa of patients with Crohn's disease and with spondylarthropathy.* Clin. Exp. Immunol., 1992, 90, 275–279.
33. DALEKOS G.N., MANOUSSAKIS M.N., GOUSSIA A.C., TSIANOS E.V., MOUTSOPOULOS H.M. – *Soluble interleukin-2 receptors, antineutrophil cytoplasmic antibodies, and other autoantibodies in patients with ulcerative colitis.* Gut, 1993, 34, 658–664.
34. DALTON H.R., HOANG P., JEWELL D.P. – *Antigen induced suppression in peripheral blood and lamina propria mononuclear cells in inflammatory bowel disease.* Gut, 1992, 33, 324–330.
35. DANZI J.T. – *Extraintestinal manifestations of idiopathic inflammatory bowel diseases.* Arch. Intern. Med., 1988, 148, 273–280.
36. DAS K.M., ERBER W.F., RUBINSTEIN A. – *Immunohistochemical changes in morphologically involved and uninvolved colonic mucosa of patients with idiopathic proctitis.* J. Clin. Invest., 1977, 59, 379–385.
37. DAS K.M., VECCHI M., SAKAMAKI S., DIAMOND B. – *The production and characterization of monoclonal antibodies to a human colonic antigen associated with ulcerative colitis: cellular localization of the antigen using the monoclonal antibody.* J. Immunol., 1987, 139, 77–84.
38. DEJICA D. – *Cercetări imunologice în rectocolita hemoragică.* Teză de doctorat, IMF Cluj Napoca, 1972.
39. DEJICA D., FODOR O., DUMITRAȘCU D., GRIGORESCU M. – *Cercetări histoimunologice asupra anticorpilor antijejunali.* Med. Int., 1972, 24, 741–745.
40. DEJICA D. – *Gastrointestinal secretory immunologic system in health and disease.* Rev. Roum. Méd. Int., 1973, 10, 3–12.
41. DEJICA D., STĂNESCU L. – *Profilaxia rectocolitei hemoragice,* în: Gastroenterologie preventivă (sub red. D. Dumitrașcu), Ed. Medicală, București, 1987, 423–444.
42. DEJICA D., NÜSSLEIN I., PORR P.J. – *Receptorul solubil seric al interleukinei–2 în rectocolita hemoragică și boala Crohn.* Acad. Rom., Filiala Cluj, Comisia de Științe Med., 30 III 1993.
43. DEJICA D., BLEIL L., PORR P.J. – *Anticorpii anticitoplasma neutrofilelor (p–ANCA) în rectocolita hemoragică și boala Crohn.* Soc. Rom. Gastroenterol., Filiala Cluj, 19 XI 1992.
44. DEJICA D. – *Stressul oxidativ în bolile digestive,* în: Actualități în medicina internă (sub red. G. Gluhovschi), Ed. Helicon, Timișoara, 1993, 199–230.
45. DELPRE G., AVIDOR I., STEINHERZ R., KADISH V., BEN-BASSAT M. – *Ultrastructural abnormalities in endoscopically and histologically normal and involved colon in ulcerative colitis.* Am. J. Gastroenterol., 1989, 84, 1038–1046.
46. DENIZOT Y., CHAUSSADE S., COUTURIER D. – *Le platelet-activating factor (PAF) fécal. Un marqueur des affections inflammatoires digestives.* Presse Méd., 1993, 22, 1704–1706.
47. DIPPOLD W., WITTIG B., SCHWAEBLE W., MAYET W., MEYER ZUM BÜSCHENFELDE K.–H. – *Expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM–1, CD54) in colonic epithelial cells.* Gut, 1993, 34, 1593–1597.
48. DUERR R., DEEM R., LANDERS C., NIEDERLEHNER A., TARGAN S., SHANAHAN F. – *Analysis of elevated mucosal and peripheral cytotoxic T cell function in IBD.* Gastroenterology, 1989, 96, A 132.
49. DUERR R., TARGAN S.R., LANDERS C.J. ș.c. – *Neutrophil cytoplasmaic antibodies: a link between primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis.* Gastroenterology, 1991, 100, 1385–1391.
50. DUERR R.H, TARGAN S.R., LANDERS C.J., SUTHERLAND L.R., SHANAHAN F. – *Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis.* Comparison with other colitides/diarrheal illnesses. Gastroenterology, 1991, 100, 1590–1596.

51. EKBÖM A., ADAMI H.O., HELMICK C.G., JONZON A., ZACK M.M. – *Perinatal risk factors for inflammatory bowel disease: a case-control study.* Am. J. Epidemiol., 1990, 132, 1111–1119.
52. EKBÖM A., ZACK M.M., ADAMI H.O., HELMICK C.G. – *Is there clustering of inflammatory bowel disease at birth.* Am. J. Epidemiol., 1991, 134, 876–886.
53. ELMGREEN J., BOTH H., BINDER V. – *Familial occurrence of complement dysfunction in Crohn's disease: Correlation with intestinal symptoms and hypercatabolism of complement.* Gut, 1985, 26, 151–157.
54. ELSON C.O. – *Endotoxin and the mucosal immune response,* în: Recent advances in mucosal immunity. Strober W., Hanson L.A., Sell K.W. (eds.) New York, Raven Press, 1982, 73–80.
55. EMMRICH J., SEYFARTH M., FLEIG W.E., EMMRICH F. – *Treatment of inflammatory bowel disease with anti-CD4 monoclonal antibody.* Lancet, 1991, 338, 570–571.
56. ENTRICAN J.H., BUSUTTIL A., FERGUSSON A. – *Are the focal microscopic jejunal lesions in Crohn's disease produced by a T cell mediated immune response?* Scand. J. Gastroenterol., 1987, 22, 1071–1075.
57. EVANS C.M., PHILIPS A.D., WALKER-SMITH J.A., MAC DONALD T.T. – *Activation of lamina propria T cells induce crypt epithelial proliferation and goblet cell depletion in cultured human fetal colon.* Gut, 1992, 33, 330–335.
58. EWERT B.H., JENNETTE J.C., FALK R.J. – *The pathogenic role of antineutrophil cytoplasmic antibodies.* Am. K. Kidney Dis., 1991, 18, 188–193.
59. FACER P., BISHOP A.E., GALLIMORE A., LEE J., RAMPTON D.S., POLAK J.M. – *Expression of ICAM and LFA in inflammatory bowel disease.* J. Pathol., 1992, 167, 106A.
60. FAIS S., PALLONE F., SQUARCIA O. ş.c. – *HLA-DR antigens on colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease:* I. Relation to the state of activation of lamina propria lymphocytes and to the epithelial expression of other surface markers. Clin. Exp. Immunol., 1987, 68, 605–612.
61. FALK R.J., TERRELL R.S., CHARLES L.A., JENNETTE J.C. – *Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophil to degranulate and produce oxygen radicals in vitro.* Proc. Natl. Acad. Sci USA, 1990, 87, 4115–4119.
62. FANTRY G.T., JAMES S.P. – *Cellular and molecular immunology and biochemistry of inflammatory bowel disease.* Curr. Opin. Gastroenterol., 1993, 9, 544–551.
63. FIOCCHI C., FARMER R.G. – *Autoimmunity in inflammatory bowel disease.* Clin. Asp. Autoimmunity, 1987, 1, 12–19.
64. FIOCCHI C., ROCHE J.K., MICHENER W.M. – *High prevalence of antibodies to intestinal epithelial antigens in patients with inflammatory bowel disease and their relatives.* Ann. Intern. Med., 1989, 110, 786–794.
65. FIOCCHI C., LEVINE A.D., WEST G.A., YOUNGMAN K.R., MATSUURA T. – *Differential inhibitory effect of IL-4 on IL-2-induced cytotoxicity by intestinal lamina propria mononuclear cells (LPMC) in inflammatory bowel disease (IBD)* (Abstr.). Gastroenterology, 1990, 88, 471.
66. FIOCCHI C. – *Overview of inflammatory bowel disease pathogenesis.* Can. J. Gastroenterol., 1990, 4, 309–316.
67. FODOR O., DUMITRAŞCU D., DEJICA D., CERNESCU C. – *Anticorps antijéjunaux spécifiques pour les cellules caliciformes.* Progr. Méd., 1974, 102, 173–176.
68. FODOR O., DUMITRAŞCU D., RADU D., DEJICA D., GRIGORESCU M. – *Inflammation de la muqueuse intestinale et production d'immunoglobulines.* Ann. Gastroentérol. Hépatol., 1974, 10, 377–387.
69. FODOR O., DEJICA D. – *Ulcerative colitis – Multifactorial pathogenesis with immunologic effector mechanisms.* Rev. Roum. Méd. Int., 1977, 15, 105–110.
70. FODOR O., STĂNESCU L., DEJICA D. – *Rectocolita hemoragică,* Ed. Acad. Române, Bucureşti, 1979.

71. FUCHS D., WEISS G., REIBNEGGER G., WACHTER H. – *The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious, and malignant diseases.* Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1992, 29, 307–341.
72. FUJITA K., NAITO S., OKABE N., YAO T. – *Immunological studies in Crohn's disease.* I. Association with HLA systems in the Japanese. J. Clin. Lab. Immunol., 1984, 14, 99–102.
73. GEBOES K., RUTGEERTS P., ECTORS N. ș.c. – *Major histocompatibility class II expression on the small intestinal nervous system in Crohn's disease.* Gastroenterology, 1992, 103, 439–447.
74. GEIER D.L., MJNER P.B. – *New therapeutic agents in the treatment of inflammatory bowel disease.* Am. J. Med., 1992, 93, 199–208.
75. GIAFFER M.H., CLARK A., HOLDSWORTH C.D. – *Antibodies to Saccharomyces cerevisiae in patients with Crohn's disease and their possible pathogenic importance.* Gut, 1992, 33, 1071–1075.
76. GIBSON P.R., JEWELL D.P. – *Local immune mechanisms in inflammatory bowel disease and colorectal carcinoma. Natural killer cells and their activity.* Gastroenterology, 1986, 90, 12–19.
77. GOISCHKE E.M., ZILLY W. – *Clinical importance of organ-specific antibodies in ulcerative colitis and Crohn's disease.* Gastroenterology, 1992, 30, 319–324.
78. GREEN F.H.Y., FOX H. – *The distribution of mucosal antibodies in the bowel of patients with Crohn's disease.* Gut, 1975, 16, 125–131.
79. *The extra-enteral manifestations of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients.* Medicine, 1976, 55, 401–412.
80. GRISHAM M.B., YAMADA T. – *Neutrophils, nitrogen oxides, and inflammatory bowel disease.* Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 664, 103–115.
81. GROSS V., ANDUS T., LESER H.G., ROTH M., SCHÖLMERICH J. – *Inflammatory mediators in chronic inflammatory bowel disease.* Klin. Wochenschr., 1991, 69, 981–987.
82. HADZISELIMOVIC F., EMMONS L.R., SCHAUB U. – *Natural killer cell and large granular lymphocyte deficiency in the gut of children with inflammatory bowel disease.* Can. J. Gastroenterol., 1990, 4, 303–308.
83. HAGEN E.C., BALLIEUX B.E.P.B., VAN ES L.A., DAHA M.R., VAN DER WOUDE F.J. – *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: A review of the antigens involved, the assays, and the clinical and possible pathogenic consequences.* Blood, 1993, 81, 1996–2002.
84. HALBWACHS-MECARELLI L., NUSBAUM P., NOEL L.H. ș.c. – *Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against cathepsin G in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis.* Clin. Exp. Immunol., 1992, 90, 79–84.
85. HALSTENSEN T.S., BRANDTZAEG P. – *Local complement activation in inflammatory bowel disease.* Immunol. Res., 1991, 10, 485–492.
86. HALSTENSEN T.S., MOLLNES T.E., GARRED P., FAUSA O., BRANDTZAEG P. – *Surface epithelium related activation of complement differs in Crohn's disease and ulcerative colitis.* Gut, 1992, 33, 902–908.
87. HARDARSON S., LABREQUE D.R., MITROS F.A. ș.c. – *Antineutrophil cytoplasmic antibody in inflammatory bowel and hepatobiliary disease.* Am. J. Clin. Pathol., 1993, 99, 277–281.
88. HAYASHI K., HIRATA I., ORINO S. ș.c. – *Natural killer (NK) activity and NK subsets in patients with inflammatory bowel disease.* Jpn. J. Gastroenterol., 1988, 85, 1240–1244.
89. HELGELAND L., TYSK C., JÄRNEROT G. ș.c. – *IgG subclass distribution in serum and rectal mucosa of monozygotic twins with or without inflammatory bowel disease.* Gut, 1992, 33, 1358–1364.
90. HERBAY A. VON, BEGGERS J.-O., OTTO H.F. – *Immunopathology of ulcerative colitis: a review.* Hepato-gastroenterol., 1990, 37, 99–107.

91. HIBI T., OHARA M., TODA K. ș.c. – *In vitro anticolon antibody production by mucosal or peripheral blood lymphocytes from patients with ulcerative colitis.* Gut, 1990, 31, 1371–1376.
92. HIRATA I., BERREBI G., AUSON L.L., KEREN D.F., DOBBINS W.O. – *Immunohistological characterization of intraepithelial and lamina propria lymphocytes in control ileum and colon and in inflammatory bowel disease.* Dig. Dis. Sci., 1986, 31, 593–603.
93. HOANG P., SENJU M., LOWES J.R., JEWELL D.P. – *Phenotypic characterization of isolated intraepithelial lymphocytes in patients with ulcerative colitis and normal controls.* Dig. Dis. Sci., 1992, 37, 1725–1728.
94. HODGSON H.J.F. – *Non-specific inflammatory bowel disease – one disease or two?* In: Inflammatory bowel disease, Allan R.N., Keighley M.R.B., Alexander-Williams J., Hawkins C. (eds.). Churchill Livingstone, London, 1983, 86–93.
95. IBBOTSON J.P., LOWES J.R., CHAHAL H. ș.c. – *Mucosal cell-mediated immunity to mycobacterial, enterobacterial and other microbial antigens in inflammatory bowel disease.* Clin. Exp. Immunol., 1992, 87, 224–230.
96. JACQOUT S., BOUMSELI L., BENSUSSAN A., MODIGLIANI R. – *Anomalies des populations cellulaires du système immunitaire intestinal dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.* In: Immunité et tube digestif. Galmiche J.P., Revillard J.P., Teule-Espié M. (eds.). John Libbey Eurotext, Paris, 1992, 135–144.
97. JARBOUR W.H., JEFFRIES B.T., DAVIS J.S., WELCH W.J., MIMURA T., WINFIELD J.B. – *Autoantibodies to human stress proteins. A survey of various rheumatic and other inflammatory diseases.* Arthritis Rheum., 1991, 34, 1133–1138.
98. JENKINS D., GOODALL A., SCOTT B.B. – *Ulcerative colitis: One disease or two? (Quantitative histological differences between distal and extensive disease).* Gut, 1990, 31, 426–430.
99. JENNETTE J.C., FALK R.J. – *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease.* Am. J. Clin. Pathol., 1993, 99, 221–223.
100. JEWELL D.P., SNOOK J.A. – *Immunology of ulcerative colitis and Crohn's disease,* In: Inflammatory bowel diseases. Allan R.N. et al (eds.). Churchill Livingstone, Edinburgh, 1990, 127–146.
101. KAMOI S., SUZUKI H., YANO Y. ș.c. – *Immunological studies on the patients with Crohn's disease and a new attempt of interferon treatment.* Jpn. J. Gastroenterol., 1989, 86, 193–199.
102. KANGRO H.O., CHONG S.K.F., HARDIMAN A., HEATH R.B., WALKER-SMITH J.A. – *A prospective study of viral and mycoplasma infections in chronic inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1990, 98, 549–553.
103. KASUGAMI Y., YOUNGMAN K.R., WEST G.A., FIOCCHI C. – *Intestinal immune reactivity to interleukin 2 differs among Crohn's disease, ulcerative colitis and controls.* Gastroenterology, 1989, 97, 1–9.
104. KELLEHER D., MURPHY A., WHELAN C.A. ș.a. – *Defective suppression in the autologous mixed lymphocyte reaction in patients with Crohn's disease.* Gut, 1989, 30, 839–943.
105. KEOGAN M.T., ESNAULT V.L.M., GREEN A.J., LOCKWOOD C.M., BROWN D.L. – *Activation of normal neutrophils by anti-neutrophil cytoplasm antibodies.* Clin. Exp. Immunol., 1992, 90, 228–234.
106. KEREN D.F. – *Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease,* In: Pathology of the colon, small intestine, and anus. Norris HTh. (ed.), 2nd Ed., Churchill Livingstone, New York, 1991, 61–83.
107. KETT K., BRANDTZAEG P. – *Local IgA subclass alterations in ulcerative colitis and Crohn's disease of the colon.* Gut, 1987, 28, 1013–1021.
108. KETT K., ROGNUM T.O., BRANDTZAEG P. – *Mucosal subclass distribution of immunoglobulin G-producing cells ids different in ulcerative colitis and Crohn's disease of the colon.* Gastroenterology, 1987, 93, 919–924.

109. KETT K., BRANDTZAEG P., FAUSA O. – *J-expression is more prominent in immunoglobulin A2 than immunoglobulin A1 colonic immunocytes and is decreased in both subclases associated with inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1988, 94, 1415–1425.
110. KNOFLACH P., PARK B.H., CUNNINGHAM R., WEISER M.M., ALBINI B. – *Serum antibodies to cow's milk proteins in ulcerative colitis and Crohn's disease.* Gastroenterology, 1987, 92, 479–485.
111. KOBAYASHI K., ASAKURA H., HAMADA Y. – *T lymphocyte subpopulations and immunoglobulin-containing cells in the colonic mucosa of ulcerative colitis: a morphometric and immunohistochemical study.* J. Clin. Lab. Immunol., 1988, 25, 63–68.
112. KOIZUMI M., KING N., LOBB R., BENJAMIN C., PODOLSKY D.K. – *Expression of vascular adhesion molecules in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1992, 103, 840–847.
113. LEDUC L.E., – Chemotactic peptide-induced acute colitis in rabbits Gastroenterology, 1990, 98, 929–935.
114. LEINO L., NUUTILA J., PELLINIEMI T.T., RAJAMAKI A. – *Human recombinant GM–CSF selectively primes receptor mediated respiratory burst of neutrophils in vitro.* Immunol. Lett., 1993, 38, 26–32.
115. LICHTMAN S.N., SARTOR R.B. – *Examining the role of inflammatory cytokines in chronic inflammatory bowel disease.* J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 1993, 16, 239–240.
116. LINDBERG E., MAGNUSSON K.E., TYSK C., JARNEROT G. – *Antibody (IgG, IgA, and IgM) to baker's yeast (Saccharomyces cerevisiae), yeast mannan, gliadin, ovalbumin and betalactoglobulin in monozygotic twins with inflammatory bowel disease.* Gut, 1992, 33, 909–913.
117. LOWES J.R., JEWELL D.P. – *The immunology of inflammatory bowel disease.* Springer Semin. Immunopathol., 1990, 12, 251–268.
118. MAC DERMOTT R.P., BRAGDON M.J., KODNER I.J., BERTOVICH M.J. – *Deficient cell-mediated cytotoxicity and hyporesponsiveness to interferon and mitogenic lectin activation by inflammatory bowel disease peripheral blood and intestinal mononuclear cells.* Gastroenterology, 1986, 90, 6–11.
119. MAC DERMOTT R.P., NASH G.S., BERTOVICH M.J. ş.c. – *Altered pattern of secretion monomeric IgA and IgA subclass 1 by intestinal mononuclear cells in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1986, 91, 379–385.
120. MAC DERMOTT R.P., NAHM M.H. – *Expression of human immunoglobulin G subclass in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1987, 93, 1127–1129.
121. MAC DERMOTT R.P., STENSON W.F. – *Alterations of the immune system in ulcerative colitis and Crohn's disease.* Adv. Immunol., 1988, 42, 285–328.
122. MAC DERMOTT R.P., STENSON W.F. – *The role of the immune system in inflammatory bowel disease.* Immunol. Allergy Clin. N. Am., 1988, 8, 521–542.
123. MAC DERMOTT R.P., NASH G.S., NAHM M.H. – *Antibody secretion by human intestinal mononuclear cells from normal controls and inflammatory bowel disease patients.* Immunol. Invest., 1989, 18, 449–457.
124. MAC DERMOTT R.P., SCHREIBER S., NASH G.S., KOOPMAN W.J. – *Increased spontaneous secretion of reumatoid factor by intestinal lamina propria mononuclear cells from Crohn's disease but not ulcerative colitis patients.* Clin. Exp. Immunol., 1993, 92, 152–157.
125. MAC DONALD T.T., SPENCER J. – *Evidence that activated mucosal T cells play role in the pathogenesis of enteropathy in human small intestine.* J. Exp. Med., 1988, 167, 1341–1349.
126. MAHIDA Y.R., PATEL S., WU K., JEWELL D.P. – *Interleukin 2 receptor expression by macrophages in inflammatory bowel disease.* Clin. Exp. Immunol., 1988, 74, 382–386.
127. MAHIDA Y.R., GALLAGHER A., KURLAK L., HAWKEY C.J. – *Plasma and tissue interleukin-2 receptor levels in inflammatory bowel disease.* Clin. Exp. Immunol., 1990, 82, 75–80.

128. MALIZIA G., CALABRESE A., COTTONE M. ş.c. – *Expression of leukocyte adhesion molecules by mononuclear phagocytes in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1991, 100, 150–159.

129. MANZANO L., ALVAREZ-MON I., ABREU L. ş.c. – *Functional impairment of natural killer cells in active ulcerative colitis: reversion of the defective natural killer activity by interleukin 2.* Gut, 1992, 33, 246–251.

130. MARIN M.L., GREENSTEIN A.J., GELLER S.A., GORDON R.E., AUFSES A.H. – *Freeze-fracture analysis of epithelial cell lysosomal inclusions in Crohn's disease.* Ultrastruct. Pathol., 1984, 6, 39–44.

131. MARTEAU P., COLOMBEL J.F., NEMETH J., VAERMAN J.P., DIVE J.C., RAMBAUD J.C. – *Immunological study of histologically non-involved jejunum during Crohn's disease: evidence for reduced in vivo secretion of secretory IgA.* Clin. Exp. Immunol., 1990, 80, 196–201.

132. MATSUMOTO T., KITANO A., NAKAMURA S. ş.a. – *Heterogeneous expression of class II major histocompatibility complex (MHC) on colonic epithelial cells in patients with ulcerative colitis (UC), and possible induction by interferon gamma (IFN gamma).* Gastroenterology, 1989, 96, A 329.

133. MAYER L., EISENHARDT D. – *Lack of induction of suppressor T cells by intestinal epithelial cells from patients with inflammatory bowel disease.* J. Clin. Invest., 1990, 86, 1255–1260.

134. MAYER L., EISENHARDT D., SALOMON P., BAUER W., PLOUS R., PICCININI L. – *Expression of class II molecules on intestinal epithelial cells in humans. Differences between normal and inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1991, 100, 3–12.

135. MAYET W.J., PRESS A.G., MOLL H.R. ş.c. – *Antibodies to cytoskeletal proteins in patients with Crohn's disease.* Eur. J. Clin. Invest., 1990, 20, 516–524.

136. McDONALD G.B., JEWELL D.P. – *Class II antigen (HLA–DR) expression by intestinal epithelial cells in inflammatory diseases of the colon.* J. Clin. Pathol., 1987, 40, 312–317.

137. MIOSSEC P. – *Cytokines et anti-cytokines. Espoirs thérapeutiques en rheumatologie.* Presse Méd., 1993, 22, 1166–1168.

138. MITCHELL I.C., TURK J.L. – *An experimental model of granulomatous bowel disease.* Gut, 1989, 30, 1371–1378.

139. MONSEN U., SORSTAD J., HELLERS G., JOHANSSON C. – *Extracolonic diagnoses in ulcerative colitis: an epidemiological study.* Am. J. Gastroenterol., 1990, 85, 711–716.

140. MULLIN G.E., LAZENBY A.J., HARRIS M.L., BAYLESS T.M., JAMES S.P. – *Increased interleukin-2 messenger RNA in the intestinal mucosal lesions of Crohn's disease but not ulcerative colitis.* Gastroenterology, 1992, 102, 1620–1627.

141. MÜLLER CH., KNOFLACH P., SMETANA MEISINGER V., ZIELINSKI C.C. – *Spontaneous and interferon-induced natural cytotoxicity in Crohn's disease.* Digestion, 1988, 39, 26–34.

142. MÜLLER CH., KNOFLACH P., ZIELINSKI C.C. – *T-cell activation in Crohn's disease. Increased levels of soluble interleukin-2 receptor in serum and in supernatants of stimulated peripheral blood mononuclear cells.* Gastroenterology, 1990, 98, 639–646.

143. NASSBERGER L., LJUNGH A., SCHUMACHER G., KOLLBERG B. – *Beta-glucuronidase antibodies in ulcerative colitis.* Lancet, 1992, 340, 734–735.

144. NEIL G.A., SUMERS R.W., CHEYNE B.A. ş.c. – *CD5+B cells are decreased in peripheral blood of patients with Crohn's disease.* Dig. Dis. Sci., 1992, 37, 1390–1395.

145. OKABE N., FUJITA K., YAMASAKI M., YAO T., TSURU S. – *Immunological studies on Crohn's disease. V. Enumeration of circulating lymphocyte subsets using monoclonal antibodies.* Gastroenterol. Jpn., 1985, 20, 431–435.

146. OKADA M., YAO T., YAMAMOTO T. ş.c. – *Controlled trial comparing an elemental diet with prednisolone in the treatment of active Crohn's disease.* Hepato-gastroenterol., 1990, 37, 72–80.

147. OLDSTONE M.B.A. – *Molecular mimicry and autoimmune disease.* Cell, 1987, 50, 819–820.
148. OLSON A.D., AYASS M., CHENSUE S. – *Tumor necrosis factor and IL-1-beta expression in pediatric patients with inflammatory bowel disease.* J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 1993, 16, 241–246.
149. OLSSON R., DANIELSON A., JARNEROT G. ș.c. – *Prevalence of primary sclerosing cholangitis in patients with ulcerative colitis.* Gastroenterology, 1991, 100, 1319–1323.
150. OSHITANI N., KITANO A., OKABE H., NAKAMURA S., MATSUMOTO T., KOBAYASHI K. – *Location of superoxide anion generation in human colonic mucosa obtained by biopsy.* Gut, 1993, 34, 936–938.
151. OUDKERK POOL M., ELLERBROEK P.M., RIDWAN B.U. ș.c. – *Serum antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease are mainly associated with ulcerative colitis. A correlation study between perinuclear antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and clinical parameters, medical, and surgical treatment.* Gut, 1993, 34, 46–50.
152. PALLONE F., MATRICARDI P.M., SQUARCIA O. ș.c. – *Raised serum levels of IgM-rheumatoid factor and anti-F (ab') 2 autoantibodies in patients with active inflammatory bowel disease.* J. Clin. Lab. Immunol., 1986, 19, 175–180.
153. PALLONE F., FAIS S., SQUARCIA O., BIANCONE L., BOIRIVANT M. – *Activation of peripheral blood and intestinal lamina propria lymphocytes in Crohn's disease.* In vivo state activation and in vitro response to stimulation as defined by the expression of early activation antigens. Gut, 1987, 28, 745–753.
154. PAY C.V., KENMOTSU N., SCHOON R.A., LEIBSON P.H. – *Tumor necrosis factor and lymphotoxin secretion by human natural killer cells leads to antiviral cytotoxicity.* J. Immunol., 1988, 141, 1989–1995.
155. PEEN E., ALMER S., BODEMAR G. ș.c. – *Anti-lactoferrin antibodies and other types of ANCA in ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, and Crohn's disease.* Gut, 1993, 34, 56–62.
156. PESKAR B.M. – *Inflammatory mediators in inflammatory bowel disease.* Can. J. Gastroenterol., 1990, 4, 289–294.
157. PIRZER U.C., SCHURMANN G., POST S., BETZLER M., MEUER S.C. – *Differential responsiveness to CD3–Ti versus CD2 dependent activation of human intestinal T lymphocytes.* Eur. J. Immunol., 1990, 20, 2339–2342.
158. PIRZER U.C., SCHÖNHAAR A., FLEISCHER B., HERMANN E., MEYER ZUM BÜSCHENFELDE K.H. – *Reactivity of infiltrating T lymphocytes with microbial antigens in Crohn's disease.* Lancet, 1991, 338, 1238–1239.
159. PODOLSKY D.K. – *Inflammatory bowel disease (first of two parts).* New Engl. J. Med., 1991, 325, 928–937.
160. POULSEN L.O., ELLING P., SÖRENSEN F.B. ș.c. – *HLA-DR expression and disease activity in ulcerative colitis.* Scand. J. Gastroenterol., 1986, 21, 364–369.
161. PROUJANSKY R., FAWCETT P.T., GIBNEY K.M., TREEM W.R., HYAMS J.S. –*Examimatory bowel disease.* J. Pediatr. Gastroenterol, Nutr., 1993, 17, 193–197.
162. PULLMAN W.E., ELSBURY S., KOBAYASHI M., HAPEL A.J., DOE W.F. – *Enhanced mucosal cytokine production in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1992, 102, 529–537.
163. RAAB Y., GERDIN B., AHLSTEDT S., HÄLLGREN R. – *Neutrophil mucosal involvement is accompanied by enhanced local production of interleukin-8 in ulcerative colitis.* Gut, 1993, 34, 1203–1206.
164. RAEDLER A., FRAENKEL G., KLOSE G., THIELE H.G. – *Elevated number of peripheral T cells in inflammatory bowel disease displaying T9 antigen and Fc alpha receptors.* Clin. Exp. Immunol., 1985, 60, 518–524.
165. RAEDLER A., FRAENKEL G., KLOSE G., SEYFARTH K., THIELE H.G. – *Involvement of the immune system in the pathogenesis of Crohn's disease.* Expression of the T9 antigen on peripheral immunocytes correlates with the severity of the disease. Gastroenterology, 1985, 88, 978–983.

166. RAEDLER A., SCHREIBER S. – *Immunology of ulcerative colitis.* Hepato-gastroenterol., 1989, 36, 213–218.
167. RAEDLER A., SCHREIBER S., WEERTH A. DE., VOSS A., PETERS S., GRETEN H. – *Assessment of in vivo activated cells in patients with Crohn's disease.* Hepato-gastroenterol., 1990, 37, 67–71.
168. ROEDIGER W.E.W. – *A new hypothesis for the aetiology of Crohn's disease – evidence from lipid metabolism and intestinal tuberculosis.* Postgrad., Med. J., 1991, 67, 666–671.
169. ROMAS E., D'APICE A.J.F., PASPALIARIS B., ELLIOT P.R. – *Autoantibodies to neutrophil cytoplasmic (ANCA) and endothelial cell surface antigens (AECA) in chronic inflammatory bowel disease.* Aust. N.Z.J. Med., 1992, 22, 652–659.
170. ROSSITER G., PODOLSKY D.K. – *Expression of transforming growth factor alpha and beta in colonic mucosa in ulcerative colitis (Abstr.).* Gastroenterology, 1990, 98, 471.
171. ROTTER J.I. – *Immunogenetic susceptibilities in inflammatory bowel disease.* Can. J. Gastroenterol., 1990, 4, 261–266.
172. RUBIN L.A., KURMAN C.C., FRITZ M.E. ş.c. – *Soluble interleukin-2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro.* J. Immunol., 1985, 135, 3172–3177.
173. RUMP J.A., ROTH M., SCHOLMERICH J. ş.c. – *A new type of ANCA in sera of patients with ulcerative colitis: effects of therapy and disease severity on serum titer.* Immunol. Infekt., 1992, 20, 16–18.
174. RUTGEERTS P., GOBOES K., PEETERS M. ş.c. – *Effect of fecal stream diversion on recurrence of Crohn's disease in the neoterminal ileum.* Lancet, 1991, 338, 771–774.
175. RUTHLEIN J., IBE M., BURGHARDT W., MOSSNER J., AUER I.O. – *Immunoglobulin G (IgG), IgG1, and IgG2 determination from endoscopic biopsy specimens in control, Crohn's disease, and ulcerative colitis subjects.* Gut, 1992, 33, 507–512.
176. SALIM A.S. – *Role of the oxygen derived free radical scavengers in the measurement of recurrent attacks of ulcerative colitis: a new approach.* J. Lab. Clin. Med., 1992, 119, 710–717.
177. SARTOR R.B., CROMARTIE W.J., POWEL D.W., SCHWAB J.H. – *Granulomatous enterocolitis induced in rats by purified bacterial cell wall fragments.* Gastroenterology, 1985, 89, 587–595.
178. SARTOR R.B. – *Importance of intestinal mucosal immunity and luminal bacterial cell wall polymers in the aetiology of inflammatory joint diseases.* Bailiers Clin. Rheumatol., 1989, 3, 223–245.
179. SAVERYMUTTU S.H., CAMILLERI M., REES H., LAVENDER J.P., HODGSON H.J.F., CHADWICK V.S. – *Indium-111-granulocyte scanning in the assessment of disease extent and disease activity in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1986, 90, 1121–1128.
180. SAXON A., SHANAHAN F., LANDERS C., GANZ T., TARGAN A. – *A subset of antineutrophil anticytoplasmic antibodies is associated with inflamatory bowel disease.* J. Allergy Clin. Immunol., 1990, 86, 202–210.
181. SCHLENKER T., APENBURG S., RAEDSCH R., ANDRASSY K., PLACHKY J., KOMMERELL B. – *Antineutrophile zytoplasmatische Antikörper bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen.* Deutsch. Med. Wschr., 1992, 117, 1463–1468.
182. SCHREIBER S., MAC DERMOTT R.P., RAEDLER A., PINNAU R., BERTOVICH M.J., NASH G.S. – *Increased activation of isolated intestinal lamina propria mononuclear cells in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1991, 101, 1020–1030.
183. SCHREIBER S., RAEDLER A., CONN A.R., ROMBEAU J.L., MAC DERMOTT R.P. – *Increased in vitro release of soluble interleukin-2 receptor by colonic lamina propria mononuclear cells in inflammatory bowel disease.* Gut, 1992, 33, 236–241.

184. SCHUERMANN G.M., ABER-BISHOP A.E., FACER P. ş.c. – *Altered expression of cell adhesion molecules in uninvolved gut in inflammatory bowel disease.* Clin. Exp. Immunol., 1993, 94, 341–347.

185. SEIBOLD F., WEBER P., JENSS H., WIEDMANN K.H. – *Antibodies to a trypsyn sensitive pancreatic antigen in chronic inflammatory bowel disease: specific markers for a subgroup of patients with Crohn's disease.* Gut, 1991, 32, 1192–1197.

186. SEIBOLD F., WEBER P., KLEIN R., BERG P.A., WIEDMANN K.H. – *Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis.* Gut, 1992, 33, 657–662.

187. SELDENRIJK C.A., DREXHAGE H.A., MEUWISSEN S.G.M., MEIJER C.J.L.M. – *T-cellular immune reactions (in macrophage inhibition factor assay) against Mycobacterium paratuberculosis, Mycobacterium kausasii, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium avium in patients with chronic inflammatory bowel disease.* Gut, 1990, 31, 529–535.

188. SELDENRIJK C.A., MEUWISSEN S.G.M., SCHIPPER N.W., MORSON B.C., LINDEMAN J., MEIJER C.J.L.M. – *Value of counting colonic mucosal Ig-containing cells in the differential diagnosis of chronic inflammatory bowel disease.* J. Clin. Pathol., 1992, 45, 241–247.

189. SHANAHAN F. – *Inflammatory bowel disease.* In: Immunology of intestinal diseases. Targan S.R., moderator. Ann. Int. Med., 1987, 106, 853–870.

190. SHANAHAN F., BROGAN M., TARGAN S. – *Human mucosal cytotoxic effector cells.* Gastroenterology, 1987, 92, 1951–1957.

191. SHANAHAN F., ANTON P. – *Neuroendocrine modulators of the immune system.* Possible implications for inflammatory bowel disease. Dig. Dis. Sci., 1988, 33, 41s-49s.

192. SHANAHAN F., DEEM R., NAYERSINA R. ş.c. – *Human mucosal T-cell cytotoxicity.* Gastroenterology, 1988, 94, 960–967.

193. SHANAHAN F., LEMAN B., DEEM R., NIEDERLEHNER A., BROGAN M., TARGAN S. – *Enhanced peripheral blood T cell cytotoxicity in inflammatory bowel disease.* J. Clin. Immunol., 1989, 9, 55–64.

194. SHANAHAN F., LANDERS C., DUERR R., TARGAN S. – *Neutrophil autoantibodies as disease markers for ulcerative colitis.* Immunol., Res., 1991, 10, 479–484.

195. SHANAHAN F., DUERR R.H, ROTTER J.I. ş.c. – *Neutrophil autoantibodies in ulcerative colitis: familial aggregation and genetic heterogeneity.* Gastroenterology, 1992, 103, 456–461.

196. SHAW S. – *Leucocyte adhesion molecules: normal function and clinical relevance.* A.A.A.I. Wisconsin, 1990, 132–137.

197. SHILONI E., CORONADO E., FREUND H.R. – *Role of total parenteral nutrition in the treatment of Crohn's disease.* Am. J. Surg., 1989, 157, 180–185.

198. SHIMIZU Y., NEWMAN W., TANAKA Y., SHAW S. – *Lymphocyte interactions with endothelial cells.* Immunol. Today, 1992, 13, 106–112.

199. SIMMONDS N.J., RAMPTON D.S. – *Inflammatory bowel disease – a radical view.* Gut, 1993, 34, 865–868.

200. SMITH K.A. – *Interleukin-2: inception, impact and implications.* Science, 1988, 240, 1164–1176.

201. SNOOK J.A., DE SILVA H.J., JEWELL D.P. – *The association of autoimmune disorders with inflammatory bowel disease.* Quart. J. Med., 1989, 269, 835–840.

202. SNOOK J.A. – *Are the inflammatory bowel diseases autoimmune disorders?* Gut, 1990, 31, 961–963.

203. SNOOK J.A., LOWES J.R., WU K.C., PRIDDLE J.D., JEWELL D.P. – *Serum and tissue autoantibodies to colonic epithelium in ulcerative colitis.* Gut, 1991, 32, 163–166.

204. SOBHANI I., HOCHLAF S., DENIZOT Y. ş.c. – *Raised concentration of platelet-activating factor in colonic mucosa of Crohn's disease patients.* Gut, 1992, 33, 1220–1225.

205. SPENCER J., FINN T., ISAACSON P.G. – *Expression of HLA-DR antigens on epithelium associated with lymphoid tissue in the human gastrointestinal tract.* Gut, 1986, 27, 153–157.
206. SPRINGER T.A. – *Adhesion receptors of the immune system.* Nature, 1990, 346, 425–434.
207. STEVENS T.R.J., CAMBRIDGE G., LEAKER B., RUSSEL A., RAMPTON D.S. – *Antiendothelial cell and antineutrophil antibodies in ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD).* Gastroenterology, 1991, 100, 617 A.
208. STEVENS T.R.J., WINROW V.R., BLACKE D.R., RAMPTON D.S. – *Circulating antibodies to heat-shock protein 60 in Crohn's disease and ulcerative colitis.* Clin. Exp. Immunol., 1992, 90, 271–274.
209. STROBER W., JAMES S.P. – *The immunologic basis of inflammatory bowel disease.* J. Clin. Immunol., 1986, 6, 415–432.
210. TAKAHASHI F., DAS K.M. – *Isolation and characterization of a colonic autoantigen specifically recognized by colon tissue-bound immunoglobulin G from idiopathic ulcerative colitis.* J. Clin. Invest., 1987, 76, 311–318.
211. TAKAHASHI F., SHAH H.S., WISE L.S., DAS K.M. – *Circulating antibodies against human colonic extract enriched with a 40 kDa protein in patients with ulcerative colitis.* Gut, 1990, 31, 1016–1020.
212. TARGAN S., SAXON A., LANDERS C., GANZ T., SHANAHAN F. – *Serum antineutrophil cytoplasmic autoantibodies distinguish ulcerative colitis from Crohn's disease patients.* Abstr. Gastroenterology, 1989, 96, Part 2, A 505.
213. TARGAN S.R, DEEM R.L., SHANAHAN F. – *Immune-mediated cytotoxicity in inflammatory bowel disease.* Can. J. Gastroenterol., 1990, 4, 278–284.
214. TARGAN S.R, DEEM R.L., SHANAHAN F. – *Role of mucosal T-cell-generated cytokines in epithelial cell injury.* Immunol. Res., 1991, 10, 472–478.
215. TYSK C., LINDBERG E., JÄRNEROT G., FLODÉRUS-MYRHED B. – *Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins: a study of heritability and the influence of smoking.* Gut, 1988, 29, 990–996.
216. TOYODA H., WANG S-J., YANG H. ș.c. – *Distinct associtations of HLA class II genes with inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 1993, 104, 741–748.
217. UCHIMA H., EISHI Y., TAKEMURA T., HIROKAWA K. – *Acta Pathol.* Jpn., 1983, 33, 1183–1196.
218. VAN TOL E.A., VERSPAGET H.W., PENA A.S., KRAEMER C.V., LAMERS C.B. – *The CD56 adhesion molecule is the major determinant for detecting nonmajor histocompatibility complex-restricted cytotoxic mononuclear cell from the intestinal lamina propria.* Eur. J. Immunol., 1992, 22, 23–29.
219. VERSPAGET H.W., PENA A.S., WETERMAN I.T., LAMERS C.B.H.W. – *Disordered regulation of the in vitro immunoglobulin synthesis by intestinal mononuclear cells in Crohn's disease.* Gut, 1988, 29, 503–507.
220. WAKEFIELD A.L., SAWYER A.M., DHILLON A.P. ș.c. – *Pathogenesis of Crohn's disease: Multifocal gastrointestinal infarction.* Lancet, 1989, 2, 1057–1062.
221. WALVOORT H.C., PENA A.S. – *Crohn's disease: Entity and aetiopathogenic concepts.* J. Clin. Nutr. Gastroenterol., 1987, 2, 194–200.
222. WAYNE L.G., HOLLANDER D., ANDERSON B., SRAMEK H.A., VADHEIM C.M., ROTTER J.I. – *Immunoglobulin A (IgA) and IgG serum antibodies to Mycobacterial antigens in Crohn's disease patients and their relatives.* J. Clin. Microbiol., 1992, 30, 2013–2018.
223. WEBBERLEY M.J., HART M.T., MELIKIAN V. – *Thrombembolism in inflammatory bowel disease: role of platelets.* Gut, 1993, 34, 247–251.
224. WHEELER P.R., BULMER K., RATLEDGE C. – *Enzymes for biosynthesis de novo and elongation of fatty acids in mycobacteria grow in host cells: is Mycobacterium leprae competent in fatty acid biosynthesis?* J. Gen. Microbiol., 1990, 136, 211–217.

225. WILEMAN T., HARDING C., STAHL P. – *Receptor-mediated endocytosis.* Biochem. J., 1985, 232, 1–14.
226. WINROW V.R., MOJDEHI G.M., RYDER S.D., RHODES J.M., BLAKE D.R., RAMPTON D.S. – *Stress proteins in colorectal mucosa. Enhanced expression in ulcerative colitis.* Dig. Dis. Sci., 1993, 38, 1994–2000.
227. WOITH W., NÜSSLEIN I., ANTONI C., DEJICA D.I. ș.c. – *A soluble form of the human transferrin receptor is released by activated lymphocytes in vitro.* Clin. Exp. Immunol., 1993, 92, 537–542.
228. WU K.C., MAHIDA Y.R., PRIDDLE J.D., JEWELL D.P. – *Immunoglobulin production by isolated intestinal mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease.* Clin. Exp. Immunol., 1989, 78, 37–42.
229. YANG H., ROTTER J.I., TOYODA H. ș.c. – *Ulcerative colitis: A genetically heterogeneous disorders defined by genetic (HLA class II) and subclinical (antineutrophil cytoplasmic antibodies) markers.* J. Clin. Invest., 1993, 92, 1080–1084.
230. YOSHIDA T., HIGA A., SAKAMOTO T. ș.c. – *Immunological and clinical effects of interferon-gamma on Crohn's disease.* J. Lab. Clin. Immunol., 1988, 25, 105–108.
231. ZIMMERMANN G.A., PRESCOTT S.M., MCINTYRE M. – *Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signalling molecules.* Immunol. Today, 1992, 13, 93–100.

STADIUL ACTUAL AL IMUNOLOGIEI NEFROPATIILOR GLOMERULARE

Prof. dr. GHEORGHE GLUHOVSCHI
Clinica de Nefrologie
Universitatea de Medicină și Farmacie
Timișoara

Conf. dr. VIRGINIA TRANDAFIRESCU
Clinica de Nefrologie
Universitatea de Medicină și Farmacie
Timișoara

Asist. univ. dr. ADALBERT SCHILLER
Clinica de Nefrologie
Universitatea de Medicină și Farmacie
Timișoara

Leziunile renale din cursul GN rezultă dintr-o activare complexă a mecanismelor imunității generale și locale în cadrul răspunsului imun.

Acest proces se desfășoară într-o ordine bine stabilită, care include mai multe etape.

Mecanismele imune activate prin intermediul unui antigen exogen sau endogen se vor adresa unui organism cu o anumită structură genetică, care implică modalități proprii de răspuns imun, prezența de receptori pentru proteinele activate ale acestuia, precum și o capacitate individuală de răspuns. Un rol important pare să revină stării de nutriție și regimului alimentar, tot mai multe studii relevând relația acestora cu modalitățile de răspuns ale sistemului imun. (De Caterina și colab.)

În bolile renale glomerulare mediate imun intervin mecanisme ale imunității celulare precum și ale imunității umorale. De obicei predomină unul din aceste mecanisme.

Astfel se realizează:

NG mediate prin mecanismele imunității umorale, în care mecanismul patogenic se realizează fie prin intermediul complexelor imune, fie prin intermediul anticorpilor anti-MB glomerulară. (Coggins și colab., Donadio, Matsukura și colab., Pusey și Peters, Rifai Schnaper și Robson).

Un număr mic de nefropatii glomerulare sunt mediate în principal prin intermediul mecanismelor imunității celulare.

În general mecanismele imunității umorale se însoțesc de cele ale imunității celulare.

Cea mai mare parte a bolilor renale glomerulare este mediată prin intermediul complexelor imune. Rinichiul este un organ care poate deveni victima inocentă a unui proces imun care se desfășoară în altă parte din organism, și în cursul căruia se formează complexe imune care prin circulație ajung la nivelul nefronilor unde determină un proces inflamator.

GLOMERULONEFRITE PRODUSE PRIN INTERMEDIUL COMPLEXELOR IMUNE CIRCULANTE

Complexele imune se formează din anticorpi care reacţionează cu antigene exogene sau endogene. Numărul acestora este foarte mare.

Ele trebuiesc cunoscute pentru că îndepărtarea lor, respectiv a focarului de producere, are un efect benefic asupra evoluţiei nefropatiei.

Organismul posedă un mecanism de apărare reprezentat de celule cu capacitate de fagocitoză, respectiv de îndepărtare a acestor complexe, realizând un clearance efectiv al lor. Ele fac parte din sistemul microfagic/ macrofagic. Atunci când acesta este depăşit, sau există condiţii favorizante pentru o acţiune patogenă, apare boala.

Un rol important în clearance-ul complexelor imune revine structurii lor. Ele se pot fixa pe eritrocite atunci când au dimensiuni mari, fixatoare de complement. Ele vor fi îndepărtate mai uşor de către sistemul fagocitar, în special la nivelul ficatului. Cele care nu fixează complementul, respectiv complexele de dimensiuni mici, nu sunt supuse unui proces de clearance efectiv (Robinson).

Depunerea complexelor imune la nivelul rinichiului este dependentă de numeroşi factori: circulaţia glomerulară capilară bogată cu presiune mare şi zone turbionare, de bariera glomerulară cu încărcătura electrică selectivă, de capacitatea celulelor mezangiale înzestrate cu proprietăţi fagocitare de îndepărtare a acestor complexe, ca şi de mărimea, structura şi încărcătura lor.

Ele se vor depune fie la nivelul mezangiului, procesul inflamator determinând o GN proliferativă mezangială, fie la nivelul MB, subendotelial sau subepitelial, determinând un proces inflamator la acest nivel. Frecvent se observă o depunere a complexelor imune atât la nivelul mezangiului, cât şi la nivelul MB glomerulare.

După Davison, depunerea complexelor imune se face în funcţie de încărcătura şi afinitatea lor în locuri diferite la nivelul glomerulului. Acesta ar interveni prin afinitatea structurilor sale faţă de complexele imune, ca şi prin factorii locali hemodinamici.

La nivelul mezangiului se dispun cu precădere complexe cationice cu afinitate mare. La nivelul peretelui capilar glomerular se dispun în special complexe mici, anionice, sau cele neutre cu afinitate mică.

Aceste observaţii sunt rezultatul unor studii experimentale. Locusurile anionice sunt dispuse la nivelul MB, precum şi la nivelul laminei rară internă şi al laminei rară externă.

Se consideră că complexele imune provenite din circulație se depun de preferință la nivelul mezangiului și subendotelial.

Complexele imune formate in situ se depun mai frecvent subepitelial (Davison).

FORMAREA COMPLEXELOR IMUNE IN SITU

Antigene diverse cu încărcătură cationică de tipul moleculelor de ADN, lectinelor sau imunoglobulinelor se depun la nivelul situsurilor anionice de la nivelul mezangiului și la nivelul peretelui capilar. Ele vor reacționa la acest nivel cu anticorpii, formându-se complexe imune la nivel local. (Vogt)

Complexele imune se pot forma la nivelul spațiului subepitelial unde determină o GN membranoasă. La acest nivel leucocitele au o acțiune limitată, întrucât ele nu pot traversa MB intactă. Complexele imune formate in SITU fixează proteinele sistemului complementar. Leziunile se produc prin intermediul complexului de atac al membranei. (Remuzzi și colab.)

Complexele imune formate subendotelial sunt îndepărtate mult mai rapid ca și cele depuse subepitelial.

NEFRITELE PRODUSE PRIN ANTICORPI ANTI-MB

Sunt cunoscute mai multe tipuri de GN mediate prin anticorpi anti-MB realizate experimental. Aceștia sunt de regulă autoanticorpi. Se apreciază că GN mediate prin autoanticorpi anti-MB glomerulară reprezintă la om 5% din totalul nefropatiilor glomerulare mediate imun.

La om se descriu GN mediate prin anticorpi anti-MB glomerulară în sindromul Goodpasture și în unele GN rapid progresive. (Turner și colab.)

În GN din sindromul Goodpasture s-au evidențiat autoanticorpi față de domeniul necolagenic globular 1, al colagenului de tip IV.

Anticorpii anti-MB glomerulară circulanți, ca și anticorpii eluați din rinichii pacienților cu sindrom Goodpasture, se leagă de MB alveolare pulmonare, de MB ale capsulei Bowmann și de cele ale plexurilor coroide.

După Couser, prezența depozitelor imune la nivelul glomerulilor poate realiza leziunile renale prin creșterea permeabilității glomerulare, fără o infiltrare a celulelor inflamatorii circulante, și fără o reacție proliferativă a

celulelor glomerulare. Fenomenul este observat atunci când leziunea glomerulară se produce numai prin intermediul anticorpilor sau numai prin intermediul complexului de atac al membranei.

ROLUL ANTICORPILOR ÎN PRODUCEREA LEZIUNILOR INFLAMATORII: LEZIUNI GLOMERULARE PRODUSE NUMAI PRIN ACȚIUNEA DIRECTĂ A ANTICORPILOR

Studii experimentale recente au demonstrat că anticorpii pot realiza singuri leziuni glomerulare. Acestea se caracterizează biologic printr-o proteinurie importantă consecutivă lezării barierei de filtrare.

Morfopatologic se caracterizează prin absența leziunilor în microscopia optică, în timp ce în microscopia electronică se evidențiază ștergerea pedicelelor celulelor glomerulare (Couser).

Fenomenul a fost demonstrat experimental prin utilizarea anticorpilor monoclonali îndreptați împotriva antigenelor, selectați de la nivelul membranei celulelor epiteliale.

Anticorpii anti-celule epiteliale glomerulare realizează o detașare a celulelor epiteliale de MB glomerulară. Procesul s-ar putea să se datoreze unei perturbări a proteinelor de adeziune, la acest nivel se perturbă hemodinamica glomerulară cu pierderea barierei de conductivitate hidraulică, cu creșterea fluxului proteinelor prin peretele capilar (Couser). Celulele epiteliale ar putea să producă mediatori ai inflamației care să realizeze leziuni ale MB glomerulare.

Couser a evidențiat o proteinază neutră cu activitate față de colagenul de tip IV și MB, proteinază care este produsă de către celulele epiteliale în cultură.

Fenomenul se aseamănă cu cel observat în GN cu leziuni minime în care leziunea este produsă de către citokine.

Leziunile renale se pot produce consecutiv acțiunii unor celule cu rol inflamator din circulație, în colaborare cu celulele proprii ale glomerulului.

GLOMERULONEFRITELE PRODUSE PRIN ANTICORPI FAȚĂ DE CELULELE GLOMERULARE

Astfel, GN membranoasă experimentală de tipul nefritei Heymann pasive, incriminează anticorpi față de celulele epiteliale.

În nefropatia din lupusul eritematos diseminat se evidențiază anticorpi față de celulele endoteliale. În vasculitele autoimune primitive s-au observat de asemenea anticorpi anti-celule endoteliale.

Mecanismele autoimune sunt incriminate în nefropatiile glomerulare. După Hay și colab. părțile de carbohidrați care intră în structura imunoglobulinelor sunt importante pentru fagocitoza lor. Defecte în molecula de carbohidrat vor putea limita procesul de fagocitoză.

De asemenea, anticorpii față de antoantigeni sunt direcționați față de un număr redus de epitopi. Consecutiv, rețeaua complexelor imune este limitată în dimensiuni, conducând la o capacitate redusă de fixare a complementului, și ca urmare acesta are și un clearance redus (Hay și colab.).

GN membranoasă prezintă o similitudine cu nefrita Heymann. În această nefrită experimentală se formează autoanticorpi față de antigenul gp300, care se află dispus la nivelul celulelor epiteliale și la nivelul celulelor tubulare.

Se consideră că glomerulonefrita membranoasă la om ar reprezenta o nefrită în care complexele imune se formează in situ, prin acțiunea autoanticorpilor față de antigenele celulelor epiteliale.

Această similitudine a GN membranoase la om cu nefrita Heymann produsă la șobolan, a determinat emiterea ipotezei că GN membranoasă observată în patologia clinică umană ar reprezenta o afecțiune în care mecanismele autoimune joacă un rol deosebit de important.

Mecanismele autoimune sunt incriminate și în GN proliferativă mezangială. Astfel, în glomerulonefrita experimentală la șobolan, fixarea de anticorpi heterologi se face pe membrana celulei mezangiale cu mezangioliză consecutivă. Depunerea complexului de atac al membranei determină leziunea celulei mezangiale. Urmează o proliferare a celulelor mezangiale cu proteinurie consecutivă.

În producerea leziunilor renale un rol important revine sistemului complementar (Mathieson). Acesta reprezintă un efector al proceselor inflamatorii de natură imună prin intermediul complexului de atac al membranei.

Complexele imune circulante ca și cele formate in situ utilizează acest efector în producerea leziunilor renale. Depunerea complexelor imune circulante în rinichi este urmată de legarea de aceste complexe a proteinelor circulante care aparțin sistemului complementar. Unele complexe imune preformate în circulație conțin și elemente ale sistemului complementar.

Până recent se consideră că proteinele sistemului complementar sunt sintetizate la nivelul ficatului. Studii recente asupra cărora vom reveni mai jos, au demonstrat sinteza lui C_3 de către celulele epiteliale glomerulare, ca și de către cele mezangiale. Producția locală de C_3 este crescută în cursul nefritei prin complexe imune.

Se realizează astfel atât o sinteză cât și o activare a sistemului complementar datorită producției locale a acestuia în condițiile prezenței complexelor imune, fără a fi întotdeauna necesară prezența componentelor sistemului complementar aflate în circulație.

Proteinele sistemului complementar vor recruta și activa celulele imune din sistemul circulator. În același timp, sistemul complementar poate realiza leziuni tisulare independent de celulele cu proprietăți inflamatorii.

Sistemul complementar poate avea un rol amplificator al fenomenelor inflamatorii de natură imună, determinând eliberarea de citokine de tipul interleukinei 1 sau a prostaglandinelor cu rol inflamator. După Hänsch și colab. sistemul complementar poate induce prin intermediul complexului de atac al membranei sinteza de colagen, și prin aceasta să determine progresia inflamației glomerulare acute spre cronicitate (Hänsch și colab.).

Mecanismele autoimune sunt implicate în vasculite (Van Es și colab.)

Factorii celulari implicați în procesul inflamator renal de natură imună sunt reprezentați în primul rând de celulele sistemului macrofagic/microfagic, urmate de participarea celulelor sistemului limfocitar.

Activarea lor se face gradat. Astfel, inițial antigenul este preluat de către macrofage și celulele dendritice, care după prelucrare îl prezintă limfocitelor T ajutătoare (helper). Acestea odată activate produc mai multe citokine prin care influențează celelalte celule limfocitare și macrofagele pe care le activează.

Limfocitele helper influențează prin intermediul citokinelor limfocitele B producătoare de anticorpi.

Antigenele împreună cu anticorpii formează complexe imune fie în circulație, complexe care se vor depune în rinichi subendotelial, fie local, in situ, cu depozite subepiteliale.

Sub influența interleukinei 2 produsă de limfocitele ajutătoare, se va produce transformarea limfocitelor T citotoxice imature în limfocite mature.

Activarea limfocitelor T supresoare va controla procesul inflamator de natură imună, limitând printr-un mecanism de feedback răspunsul imun (Davison).

Rolul limfocitelor T este pus în evidență de studii experimentale. (Diaz-Gallo și Kelley, Tipping).

Astfel, Tipping și colab. au demonstrat că în GN experimentală prin anticorpi anti-MB, limfocitele T sunt prezente la nivelul glomerulului înaintea mononuclearelor și a producerii leziunilor glomerulare. Limfocitele T suferă un proces de activare funcțională, exprimând receptori pentru interleukina 2, producând în același timp citokine de tipul factorului de inhibiție al macrofagelor (MIF).

Studiile experimentale au evidențiat o GN proliferativă în absența anticorpilor, printr-un răspuns imun celular față de antigeni dispuși glomerular.

Se consideră că la om 20% din pacienții cu glomerulonefrite nu prezintă depozite imune (Atkins).

Mecanismele imunității celulare independente de anticorpi determină un răspuns în care anticorpii nu reprezintă factori importanți ai procesului imun.

Unele glomerulonefrite prezintă o intervenție importantă a mecanismelor imunității celulare. Acestea sunt reprezentate de către glomerulonefritele cu leziuni minime, de GN rapid progresive pauciimune, ca și de cele din cursul vasculitelor imune.

Mecanismele imunității celulare au ca și efector al procesului imun limfocitele T citotoxice. Ele interacționează cu celulele țintă care exprimă antigene din clasa II-a a sistemului major de histocompatibilitate, în asociere cu antigenul care a declanșat reacția imună.

Acțiunea citotoxică are loc prin fixarea limfocitului T de celula țintă. El acționează asupra acesteia prin intermediul unor enzime care au o activitate proteolitică, fapt care ar avea drept consecință distrugerea celulei țintă.

Limfocitele atrag prin intermediul citokinelor și macrofagele în focarul inflamator renal. Ele realizează activarea polimorfonuclearelor prin intermediul interleukinei 1, al interferonului gama și al factorului de necroză tumorală.

În afară de recrutarea și activarea monocitelor, limfocitele T ar produce și leziuni celulare directe prin intermediul unor citokine. În același timp, ele ar putea stimula celulele intrinseci glomerulare să prolifereze și să secrete mediatori ai inflamației.

Se presupune și o acțiune a limfocitelor T de lezare directă.

În vasculitele cu afectare renală, cum ar fi granulomatoza Wegener, se formează granuloame. Acest proces are loc atunci când antigenul nu mai poate fi degradat, fapt care impune transformarea macrofagelor în celule gigante sau epiteloide. De asemenea în granulom sunt prezente și limfocite cu predominența celor ajutătoare. Pe prim plan se află reacțiile de hipersensibilitate întârziată (Lockwood).

Migrarea monocitelor/macrofagelor este dependentă de numeroși factori: C_5a, leucotriene, factorul de activare plachetară, interleukina 8, proteina chemoatractantă monocitară 1.

Una dintre substanțele chemotactice cele mai puternice este reprezentată de către RANTES. S-a demonstrat că celulele mezangiale de șoarece în cultură produc RANTES. Expresia acestuia este indusă de factorul de necroză tumorală alfa (Wolf și colab.).

Factorul de necroză tumorală alfa determină sinteza și expresia interleukinei 8 și a proteinei chemoatractante monocitare 1 de către celulele mezangiale.

Antagoniștii receptorului IL_1 realizează o inhibiție a producerii de peptid chemotactic monocitar 1 de către celulele mezangiale (Brown și colab.).

O substanță cu proprietăți chemotactice pentru monocite este reprezentată de către factorul de activare plachetar, care este produs de către plachete și de alte celule care participă la procesul inflamator. El provine dintr-un precursor lyso PAF.

În cursul nefritei nefrotoxice produsă prin anticorpi anti MB glomerulară de iepure administrată la iepure, s-a evidenţiat o perturbare a metabolismului lui PAF (factorul de activare plachetar). Ca urmare, în faza autologă a acestei nefrite, PAF va determina o acumulare a macrofagelor/monocitelor datorită proprietăţilor chemotactice ale acestuia (Noris şi colab.).

Macrofagele activate vor participa la procesul imun. Ele vor acţiona asupra ţesutului renal prin intermediul enzimelor lizozomale, distrugând celula ţintă.

Dacă până în prezent toată atenţia era îndreptată spre macrofage şi polimorfonucleare, studiile recente atrag atenţia asupra celulelor dendritice, celule care sunt de asemenea prezentatoare de antigen. Asupra rolului acestora vom reveni în cursul acestui capitol.

Populaţia intrinsecă glomerulară perpetuează mersul inflamaţiei glomerulare.

Proliferarea celulelor mezangiale se produce în numeroase glomerulonefrite ca răspuns al factorilor solubili produşi de către plachete şi macrofage.

Rolul principal revine factorilor de creştere, citokinelor, componentelor matricei, mediatorilor rezultaţi în cursul procesului inflamator. În acelaşi timp, procesul proliferativ se află şi el sub influenţa imunoglobulinelor şi proteinelor sistemului complementar. Proliferarea celulelor mezangiale poate fi influenţată de celulele mezangiale propriu-zise pe cale autocrină şi paracrină. Recent s-a evidenţiat proliferarea celulelor mezangiale prin intermediul unor lectine.

Proliferarea celulelor mezangiale se însoţeşte de modificări importante ale matricei mezangiale, însoţindu-se de o adevărată expansiune mezangială.

Celulele endoteliale interacţionează cu limfocitele circulante. Ca urmare, ele suferă modificări funcţionale importante. Ele se află în interrelaţie şi cu celelalte celule care compun glomerulul, şi în primul rând cu celelalte celule endoteliale şi cu celulele mezangiale.

Celulele endoteliale produc mediatori solubili prin care influenţează funcţia acestor celule. Dintre acestea, endotelina şi factorul de relaxare endotelial joacă un rol esenţial în reglarea circulaţiei în cursul procesului inflamator.

Prin intermediul interleukinei 1 se stabileşte legătura cu celulele leucocitare sanguine. Celulele endoteliale au un rol important în menţinerea unei stări de hipocoagulabilitate, printr-o acţiune anticoagulantă. Permeabilitatea vasculară se află de asemenea sub controlul celulelor endoteliale. Studii experimentale au demonstrat că factorul de necroză tumorală administrat la iepure determină leziuni endoteliale, induce depunerea de fibrină, perturbând expresia trombomodulinei şi favorizând procesele inflamtorii (Atkins).

Celulele epiteliale au un rol în cursul procesului inflamator în reglarea producerii de matrice extracelulară.

Celulele epiteliale sunt afectate în mai multe tipuri de nefropatii glomerulare.

Astfel, formarea de autoanticorpi față de antigenele celulelor epiteliale determină formarea in situ a complexelor imune în glomerulonefrita membranoasă.

În glomerulonefritele proliferative extracapilare are loc o proliferare importantă a celulelor epiteliale.

Proliferarea celulelor epiteliale se află sub influența unor factori de creștere ca și sub influența unor mediatori ai inflamației. Astfel, factorul de transformare al creșterii beta în doze mici și factorul de creștere epitelial promovează proliferarea celulelor epiteliale în timp ce factorul de transformare al creșterii beta în doze mari inhibă proliferarea.

Dintre produșii rezultați în urma procesului inflamator, trombina și leucotrienele determină proliferarea celulelor epiteliale glomerulare (Atkins).

Un rol important ar reveni proteinelor de atașament de tipul vinculinei și talinei. Modularea structurii integrine-citoschelet ar avea un rol important în geneza proteinuriei (Camussi).

PROCESELE DE COAGULARE ÎN LEZIUNILE INFLAMATORII

La nivelul glomerulului, în cursul procesului inflamator de natură imună participă și procesele de coagulare. Ele sunt uneori de importanță deosebită, așa cum se constată în GN rapid progresivă cu proliferare extracapilară.

La nivelul glomerulului, formarea fibrinogenului, respectiv a fibrinei se face consecutiv activării atât a căii extrinseci, cât și a celei intrinseci a coagulării. Formarea trombinei are la bază prezența unor factori procoagulanți de tipul trombomodulinei, colagenului și al unor factori tisulari.

Trombina acționează asupra receptorilor prezenți la nivelul celulelor glomerulare. Ca urmare este stimulată proliferarea acestora, cu precădere a celulelor mezangiale și epiteliale.

Celulele mononucleare posedă și exprimă factorul tisular al coagulării.

În același timp la nivelul glomerulului există factori cu efect anticoagulant.

Factorii hemostatici prezenți la nivelul glomerulului se află sub controlul unor citokine ca IL_1 și factorul de necroză tumorală (Rondeau și colab.). Acestea acționează pe celulele care exprimă factorii coagulării. Ele suferă un proces de proliferare.

La nivelul glomerulului sunt prezenți factori ai sistemului fibrinolitic. În același timp glomerulul posedă și factori antifibrinolitici.

În cursul proceselor inflamatorii care au loc în cursul nefropatiilor imune se activează alfa trombina ca urmare a activării mecanismelor coagulării atât pe calea extrinsecă, cât și pe cea intrinsecă. Alfa trombina are și un efect antifibrinolitic.

Ea activează concomitent celulele intrinseci glomerulare ca și pe cele monocitare. Monocitele și celulele glomerulare, într-o proporție mult mai redusă, produc enzime proteolitice cu leziuni tisulare, în special ale MB.

Procesul inflamator glomerular poate să se stingă cu rezoluția sa, sau să evolueze, fiind urmat de leziuni de fibroză.

Activarea procesului de fibrinoliză determină îndepărtarea fibrinei și a trombușilor formați.

Ca urmare structura glomerulului poate reveni la normal.

Acumularea de fibrină reprezintă un dezechilibru dintre mecanismele procoagulante și fibrinolitice. Acumularea de coaguli poate fi în relație cu o activitate crescută a inhibitorului activatorului plasminogenului.

Procesul este urmat frecvent de scleroza glomerulară consecutiv unei depuneri de colagen.

PLACHETELE SANGUINE ÎN MEDIEREA INFLAMAȚIEI GLOMERULARE

Mecanismele coagulării sunt activate încă din primele faze ale procesului inflamator mediat imun. Localizarea plachetelor este dependentă de sistemul complementar. Acesta, prin intermediul complexului de atac al membranei determină o leziune la nivel tisular, care permite localizarea plachetelor. Ele aderă prin intermediul proteinelor de adeziune de zonele expuse ale MB ca și de zonele subendoteliale.

Plachetele sunt purtătoare de proteine de adeziune de tipul factorului von Wilebrand, trombospondinei, fibrinogenului și fibronectinei.

Chemotactismul plachetar se datorează colagenului și factorului de activare plachetar. În același timp, plachetele favorizează depunerea de complexe imune la nivelul glomerulului. Astfel, prin aminele vasoactive de tipul histaminei pe care le eliberează, plachetele cresc permeabilitatea glo-

merulară și modulează hemodinamica glomerulară(Mahan și colab). Eliberarea aminelor vasoactive se produce sub influența factorului 4 plachetar.

Plachetele posedă receptori de tip Fc și receptori pentru complement de tip CR_1, uneori și CR_2, CR_3, și CR_4, prin intermediul cărora se leagă de complexele imune (Johnson).

Plachetele vor produce substanțe de tipul tromboplastinei, care vor activa mecanismele coagulării sângelui care sunt incriminate în producerea de trombi la nivelul glomerulului.

Plachetele joacă un rol important și în atracția leucocitelor la nivelul glomerulului. De altfel, leziunea glomerulară mediată prin intermediul polimorfonuclearelor necesită prezența plachetelor. Acțiunea plachetelor asupra neutrofilelor determină o creștere a aderenței acestora, crește activitatea lor fagocitară, acțiunea lor toxică și producerea de derivați de prostaglandine și leukotriene.

Plachetele au și un rol limitativ al inflamației prin producerea de antiproteinaze, ca și a altor substanțe antiinflamatorii.

În cursul procesului inflamator de natură imună la nivelul glomerulului intervin proteine cationice de tipul betatromboglobulinei, factorului 4 plachetar, al proteinei bazice plachetare. În același timp ele produc enzime de tipul proteinazelor neutre, hidrolazelor acide și heparanazei. Prin acestea ele accentuează fenomenele inflamatorii. Substanțele oxidante produse de către plachete sunt reprezentate de apa oxigenată și anionul superoxid (O_2^-).

Plachetele induc migrarea celulelor mezangiale și mitoza lor, contribuind la proliferarea locală a celulelor glomerulare. Plachetele determină frecvent, odată cu proliferarea mezangială, și modificări ale celulei mezangiale. Plachetele influențează proliferarea mezangială din cursul GN, în principal prin intermediul factorului de creștere derivat din plachete. În afara acestuia, ele mai produc și factorul de transformare al creșterii beta, factorul de creștere epidermic și factorul de creștere endotelial. Un rol important în stimularea proliferării celulare îl are și interleukina 2.

Celulele mezangiale supuse acțiunii factorului de creștere derivat din plachete și a altor factori de creștere, vor produce la rândul lor factorul de creștere derivat din plachete, care va amplifica pe cale autocrină proliferarea celulelor mezangiale. La fel, neutrofilele vor produce după activare factori de creștere, inclusiv factorul de creștere derivat din plachete, care va amplifica activitatea plachetară.

Prin intermediul factorului de creștere derivat din plachete și al factorului de transformare al creșterii beta, plachetele stimulează activitatea fibroblastică.

Astfel, se consideră că plachetele reprezintă factori importanți implicați în fibroza renală, cu distrucția nefronului ca unitate funcțională, și în evoluția spre insuficiența renală (Cameron și colab.).

Consecința terapeutică a acestor observații o reprezintă utilizarea tratamentului cu agenți antiplachetari și a tratamentului anticoagulant în nefropatiile mediate imun (Fatamura).

ROLUL FACTORULUI DE CREȘTERE DERIVAT DIN PLACHETE ÎN PATOLOGIA IMUNĂ GLOMERULARĂ

Factorul de creștere derivat din plachete. Sinonim: Platelet derived growth factor (PDGF).

Reprezintă o glicoproteină bazică care se poate prezenta sub trei tipuri izomorfe. Este produs în principal de către plachete, precum și de celulele endoteliale și celulele musculare netede.

Macrofagul este și el un producător important de PDGF. La nivelul glomerulului, PDGF este produs de către celulele mezangiale și epiteliale.

PDGF se fixează la nivelul diverselor celule prin intermediul unui receptor specific (Fellstrom și colab.).

Studii experimentale au demonstrat în nefrita imună produsă prin anticorpi față de antigenul Thy-1, o expresie crescută a PDGF la nivelul celulelor mezangiale. Antigenul Thy-1 este un marker al celulelor mezangiale. Expresia PDGF este într-o relație strânsă cu proliferarea celulelor mezangiale din cadrul acestui model experimental de GN.

Întrucât anticorpii față de antigenul Thy-1 sunt fixatori de complement, depleția acestuia inhibă proliferarea mezangială. De asemenea, depleția plachetară are efecte similare.

Producerea de PDGF la nivelul glomerulului a fost observată și în alte nefropatii experimentale ca nefroza aminoglicosidică, GN prin anticorpi anti-membrană bazală glomerulară, nefrita Heymann pasivă. Toate aceste nefropatii experimentale se caracterizează printr-o proliferare mezangială.

S-a evidențiat ca receptorul PDGF este exprimat în GN proliferativa mezangială fapt demonstrat în nefrita experimentală produsă prin anticorpi față de antigenul Thy-1. Celulele care exprimă PDGF au fost identificate atât în nefropatii experimentale cât și în cele umane, fiind reprezentate de macrofage active, celule mezangiale și epiteliale glomerulare (Johnson).

Celulele endoteliale produc PDGF in vitro, fără a se demonstra că ele exprimă acest factor în bolile renale experimentale sau umane.

Expresia PDGF în bolile glomerulare se află sub influența mai multor factori. Astfel, in vitro s-a demonstrat producerea PDGF de către celulele mezangiale sub influența factorului PDGF propriu-zis, factorul de creștere fibroblastic bazal ca și al endotelinei (Jaffer și colab.).

S-a demonstrat că administrarea PDGF exogen poate induce o proliferare a celulelor mezangiale, in vitro.

Faptul că inhibiția PDGF în vitro reduce proliferarea celulară mezangială din GN experimentală a pus în discuție utilizarea acestei inhibiții în limitarea proliferării mezangiale din nefropatii.

Astfel, în GN experimentala cu anticorpi anti-Thy-1, administrarea inhibitorilor antiplachetari de tipul trapidilului realizează o diminuare a hipercelularității glomerulare, fapt ce deschide perspective în tratamentul GN proliferative ca urmare a utilizării inhibitorilor PDGF.

În unele nefropatii umane însoțite de leziuni proliferative s-a evidențiat producerea PDGF în cantitate crescută, ca de exemplu în: GN cu depozite de IgA, GN difuza din cadrul LED, GN proliferativă mezangială (Nakajima și colab.).

Se apreciază după Johnson că în bolile glomerulare PDGF ar acționa pe celulele mezangiale în mod complex: de exemplu ar stimula producerea de interleukina 1 de către celulele mezangiale, contracția și migrația acestor celule, precum și producția matricei extracelulare.

PDGF ar interveni și în proliferarea celulelor epiteliale. Acțiunea factorului de creștere epidermal asupra celulelor mezangiale ar fi mediată prin intermediul PDGF.

De asemenea se atribuie PDGF un rol chemotactic pentru alte celule ca neutrofilele și monocitele.

Prin acțiunea vasoconstrictoare ar reduce rata de filtrare glomerulară și rata fluxului sanguin renal (Johnson).

Johnson considera că PDGF ar fi un component normal în răspunsul proliferativ care acompaniază remodelarea și repararea tisulară. Atunci când aceasta este excesivă, se intrică cu expansiunea matricei mezangiale și producerea glomerulosclerozei segmentale și focale.

O atenție deosebită se acordă în ultimul timp fenomenelor de adeziune dintre celule ca și dintre celule și matricea înconjurătoare.

Aceasta are un rol important în menținerea structurii normale și a funcției organelor. Totodată, în cursul procesului inflamator, migrarea celulelor circulante la nivelul focarului inflamator incriminează un proces de recunoaștere de contact dintre celulele inflamatorii și endoteliul vascular pe care-l realizează moleculele de adeziune.

La nivelul rinichiului se află o mare suprafață tapetată de celule endoteliale și în același timp celulele glomerulului se află în strânsă relație cu matricea înconjurătoare. Fenomenele sunt deosebit de importante la nivelul matricei mezangiale, interrelația dintre celulele mezangiale și matrice, ca și dintre acestea și celelalte celule glomerulare jucând un rol deosebit în cursul proceselor inflamatorii renale.

În leziunea glomerulară sunt implicați numeroși mediatori prin intermediul cărora celulele care participă la procesul inflamator își exercită

acțiunea. Aceștia sunt reprezentați de către celulele glomerulare, respectiv de cele epiteliale, endoteliale și în special mezangiale, ca și de cele provenite din sistemul circulator, în special polimorfonuclearele și macrofagele.

Între aceste celule există un permanent schimb de informații care determină participarea lor secvențială la procesul inflamator.

Substanțele cu acțiune locală produse de către aceste celule sunt definite ca și autacoizi. Celulele prezente în procesul inflamator vor produce autacoizi atât pe cale autocrină cât și pe cale paracrină (Ardaillou).

Metaboliții reactivi de oxigen sunt produși în principal de către neutrofilele și monocitele/macrofagele care infiltrează glomerulul. De asemenea, celulele mezangiale și celulele epiteliale glomerulare sunt producătoare de metaboliți reactivi de oxigen.

Reactivii activi de oxigen desfășoară o acțiune citotoxică discretă. Leziunea celulelor mezangiale ar fi consecința unei astfel de acțiuni. În același timp reactivii activi de oxigen posedă și o acțiune citotoxică indirectă, stimulând neutrofilele și activând o metaloenzimă latentă.

Studiile experimentale au evidențiat un rol modulator al acestor produși asupra producției unor mediatori de tipul citokinelor, ca de exemplu factorul de necroză tumorală, al prostaglandinelor și al tromboxanului. În același timp reactivii activi de oxigen inactivează ADP-aza, o enzimă care împiedică formarea trombilor (Shah).

Metaboliții de tipul reactivilor de oxigen pot să fie mediatori importanți ai leziunilor glomerulare, chiar atunci când lipsesc leucocitele din infiltratul inflamator.

Celulele epiteliale produc reactivi de oxigen în glomerulonefritele cu proteinurie chiar în stadiile avansate, independent de prezența celulelor inflamatorii, dar dependent de formarea locală a complexului de atac al membranei. Dacă metaboliții reactivi de oxigen intervin în producerea proteinuriei din cursul nefropatiilor glomerulare, substanțele care îndepărtează acești produși suprimă proteinuria. Acest fenomen este evident în GN experimentale prin anticorpi anti-MB, ca și în cursul nefritei pasive Heymann.

Metaboliții acidului arahidonic de tipul prostaglandinelor și al leukotrienelor sunt produși în principal de către polimorfonucleare, celule epiteliale, mezangiale și plachete. Ei au o acțiune complexă asupra rinichiului, acțiune care poate fi mediată prin antiinflamatoarele nesteroidiene și prin dietă.

Sunt produse prostaglandine și tromboxan A2 ca și leukotriene. Ele vor influența mai multe funcții ale rinichiului. Astfel, celulele glomerulare activate vor produce tromboxan A2, care este asociat cu scăderea fluxului sanguin renal și al ratei de filtrare glomerulară. Aceste efecte sunt contracarate

de PGI2 și PGE2, afectând și gradul proteinuriei. Leukotrienele LTB4, LTC4 și LTD4 sunt produse de către leucocite în cursul procesului inflamator. Dintre acestea LTB4 are un puternic rol chemotactic. Unele leukotriene ca și leukotriena D2 au un rol vasoconstrictor, în timp ce lipoxinul A4 are rol vasodilatator.

Oxidul nitric joacă un rol important în reglarea tonusului vascular, reglând în același timp permeabilitatea vasculară. Are și o importantă acțiune antiproliferativă.

Enzimele proteolitice joacă un rol esențial în producerea leziunilor tisulare din cursul procesului inflamator.

Astfel, polimorfonuclearele eliberează proteaze care degradează MB.

În cursul procesului de proliferare din cursul inflamației de natură imună, celulele mezangiale se însoțesc de eliberarea de proteinaze neutre care realizează leziuni ale MB.

Factorul de activare plachetară este produs de către celulele mezangiale. Acest factor induce proliferarea celulelor mezangiale pe cale autocrină sau paracrină.

Peptidele active formate local joacă un rol în reglarea permeabilității vasculare în cadrul procesului inflamator.

Angiotensina II determină un efect contractil asupra celulelor mezangiale prin intermediul receptorilor specifici prezenți la nivelul acestor celule. Endotelina determină și ea un efect contractil al acestor celule. Contracția celulelor mezangiale are un rol în reglarea hemodinamicii capilarelor glomerulare.

Citokinele intervin în mod complex în procesul inflamator.

Macrofagele produc interleukina 1. În același timp, macrofagele sunt sursa principală a factorului de necroză tumorală în focatul inflamator. Acestea stimulează nivelul AMP-ului ciclic la nivelul celulelor mezangiale. Ca urmare crește producția lor de PGE2. Interleukina 1 are un efect similar pe celulele mezangiale, fenomen demonstrat la șobolani și la om (Ardaillou).

Sub influența anionului superoxid, celulele mezangiale determină o creștere a proteinei monocitatre chemoatractante 1 ca și a factorului de stimulare a coloniilor monocitare (Schlondorf).

Factorii de creștere intervin în procesul inflamator, reglând proliferarea celulelor implicate în acest proces.

Astfel, factorul de creștere epidermic induce proliferarea celulelor mezangiale.

Și alți factori de creștere intervin în modularea proliferării celulelor mezangiale în cursul procesului inflamator.

NUCLEOTIZII ȘI METABOLIȚII LOR

Se știe că adenozina are un rol important în medierea unor răspunsuri cu caracter fiziologic. Celulele mezangiale posedă două tipuri de receptori pentru adenozină. De altfel și celelalte celule care intră în structura glomerulului posedă receptori pentru adenozina. Experimental s-a demonstrat că adenozina realizează o diminuare tranzitorie a fluxului sanguin renal, cu scăderea ratei de filtrare glomerulară și inhibiția secreției de renină.

MOLECULELE DE ADEZIUNE

Leucocitele care infiltrează glomerulul în cursul procesului inflamator exprimă molecule de adeziune. Celulele intrinseci glomerulare exprimă și ele molecule de adeziune. Acestea ar juca un rol major în reglarea penetrării leucocitelor, precum și a cumulării lor în cursul procesului inflamator din glomerulonefrite (Atkins și colab.).

Între autacoizii prezentați mai sus există o interrelație strânsă în cadrul procesului inflamator care are loc la nivel glomerular. Astfel, unii autacoizi acționează sinergic. Ei au frecvent o acțiune bidirecțională, o celulă fiind în același timp sursa și ținta autacoizilor, existând frecvent o ansă reglatoare. În același timp efectele finale pot fi rezultatul unei reacții în cascadă. Astfel, citokinele, de exemplu factorul de necroză tumorală, reglează secreția eicosanoizilor, iar aceștia la rândul lor reglează sinteza factorului de necroză tumorală (Ardaillou).

Producția crescută de tromboxan A2 este stimulată prin acțiunea interleukinei 1 alfa și prin intermediul complexului de atac al membranei. Acesta va acționa asupra celulelor mezangiale stimulându-le starea de contractilitate cu creșterea sintezei de laminină, fibronectină și colagen IV. PGE2 și PGI2 au un efect opus acesteia (Bernhein).

După Bernhein, autacoizii produși local în GN determină recrutarea celulelor inflamatorii, afectează hemodinamica glomerulară și modulează efectele lor patologice (Bernhein).

Una din ipotezele recent enunțate privitor la leziunile renale consecutive proceselor imune este cea a lui Davison, intitulată „Two Hit Hypothesis" sau ipoteza celor două lovituri.

În acest concept, expunerea la o substanță poate face pacientul mult mai vulnerabil la efectele adverse urmând expunerii unei a doua substanțe.

Davison a efectuat o experiență asupra șobolanilor Sprague-Dawley, cărora le-au administrat imposil singur sau particule de latex modificate.

În al doilea stadiu, particulele de latex modificate sunt administrate inițial, urmate de administrarea de imposil.

Imposilul singur se însoțește de o depunere redusă de imunoglobuline, complement sau celule imune reactive la nivelul glomerulului. În mod similar, după administrarea de particule de latex modificate un număr mic de celule apar la nivelul glomerulului.

Atunci când imposilul a fost administrat primul, urmat de latexul modificat, s-a constatat o depunere intensă de complement, imunoglobuline și celule infiltrative. Administrarea celor două substanțe în secvență inversă nu determină fenomenele de mai sus (Davison).

Prin acest studiu Davison a demonstrat că o leziune glomerulară poate fi în parte diminuată de secvența expunerii la o insultă particulară.

Studiile experimentale și clinice au evidențiat principalele mecanisme care participă în procesele imune din cadrul nefropatiilor glomerulare. Ele se traduc printr-o mare complexitate ca și prin particularitatea lor în cursul diverselor tipuri de leziuni glomerulare.

Sunt necesare investigații privind implicarea unor factori mai puțin studiați cum ar fi intervenția moleculelor de adeziune, a endotelinelor, oxidului nitric, a citokinelor și a factorilor de creștere.

Cunoașterea acestor mecanisme patogenice are implicații și în măsurile terapeutice care li se adresează. Un rol important revine investigațiilor care utilizează anticorpi monoclonali. Acestora li se întrevede și o aplicatibilitate terapeutică.

OBSERVAȚII PRIVIND INTERVENȚIA UNOR FACTORI GENETICI ÎN NEFROPATIILE GLOMERULARE DE NATURĂ IMUNĂ

În unele forme de glomerulonefrite, observații clinice au atras atenția asupra incideței lor familiale crescute. Ulterior studiile de imunogenetică au lărgit cadrul investigațiilor întreprinse pentru a studia implicarea factorilor genetici în nefropatiile glomerulare de natură imună.

Într-un studiu complex retrospectiv, Rambausek și colab. investigând pe o perioadă de 15 ani cazuistica clinicii de specialitate în care își desfășoară

activitatea, au constatat că din 860 de bolnavi cu GN primitivă diagnosticată în baza sedimentului urinar de tip nefritic și/sau a biopsiei renale, un număr important de bolnavi (10%) a prezentat cel puțin una din rudele de gradul I cu GN.

Studiile screening ale membrilor familiilor acestor pacienți au relevat că din 1 674 persoane investigate, 172 au avut GN, din care 101 au putut fi clasificate: 50,5% au avut sindrom Alport clasic, 21,8% forme atipice ale acestuia, 17,8% au avut GNIgA familială, 7,9% hematurie benignă familială, 1,9% glomeruloscleroză segmentală și focală.

Anomalii ale răspunsului IgA au fost observate la membrii familiilor bolnavilor cu NGIgA, fapt care ar pleda pentru intervenția unui factor familial în această boală.

Ar exista o incidență familială și la bolnavii cu SN primitiv cu leziuni minime. Într-un studiu al lui White s-a evidențiat că 63 din 1 877 copii cu sindrom nefrotic cu leziuni minime au și alți membri din familie cu sindrom nefrotic (White).

Există argumente că genele care codifică antigenele HLA clasa a II-a sistemului major de histocompatibilitate sunt implicate în patogenia unor nefropatii glomerulare.

Întrucât răspunsul imun este mediat tot de gene situate în regiunea HLA, studiul lor în nefropatii este deosebit de important. Acestea ar putea fi modulate prin gene HLA propriu-zise sau de gene situate în locusuri de vecinătate.

În sindromul nefrotic cu leziuni minime s-a evidențiat o frecvență crescută a antigenelor $HLAB_8$ asociate cu DR_3 și DR_7, primul fiind în relație cu rezistența la corticoizi, iar al doilea cu boala sensibilă la tratamentul cu corticoizi.

În același timp asocierea cu HLA DR_7 ar fi mai frecventă la bolnavii la care boala a debutat în copilărie.

Glomeruloscleroza segmentală și focală a arătat o variabilitate a asocierii antigenelor de histocompatibilitate. Astfel la copiii din Germania se semnalează o incidență mai mare a antigenelor de histocompatibilitate DR_3 și DR_7 (Ruder). Autorii americani semnalează o incidență crescută la acești bolnavi a antigenelor DR_4 și DR_{w8}.

Susceptibilitatea față de GN membranoasă la populația de origine caucaziană este în relație cu asocierea antigenelor de clasa a II-a de histocompatibilitate HLA-DR_3, A_1, și B_8 (Sacks și colab.).

Studiile de imunogenetică au incriminat perturbări ale receptorului limfocitar T, TCR în GN membranoasă.

NGIgA se întâlnește frecvent în mediul familiar. Ea a fost semnalată atât la gemeni monovitelini, cât și la cei bivitelini.

Studiile inițiale au evidențiat în NGIgA la gemeni univitelini prezența antigenului de histocompatibilitate HLA-B_{w35} (Tolkoff-Rubin și colab.

Sabatier și colab.). Încercările ulterioare de a defini asocierea NGIgA cu unele antigene de histocompatibilitate au dus la rezultate variabile, fără a se putea defini un anumit antigen HLA asociat cu această boală. Astfel, în Franța și Japonia a fost evidențiată o frecvență crescută a HLA-DR_4, în timp ce în Marea Britanie a lui DR_1.

După Moore, aceasta ar pleda pentru faptul că genele care codifică determinanții HLA de mai sus nu sunt gene de susceptibilitate propriu-zise, dar acționează ca și markeri pentru locusurile de susceptibilitate de care sunt strâns legate. Asociația frecventă cu antigenele HLA-DR indică faptul că genele responsabile de boală pot să aibă sediul în sau lângă cele ale clasei a II-a a sistemului major de histocompatibilitate (Moore).

Analizând trei grupe etnice diferite, Moore a evidențiat o asociație a polimorfismului regiunii DQ cu NGIgA. El consideră că e posibil ca gene multiple, atât ale sistemului major de histocompatibilitate, cât și unele care nu fac parte din acest sistem, sunt incriminate în producerea afecțiunii. Expresia bolii clinic manifeste este în relație cu antigene microbiene sau alimentare. Locusul DQ ar putea să nu fie un locus primar etiologic, ci să fie un marker al locusului de susceptibilitate, aflându-se cu acesta în dezechilibru de legătură (Moore). Cel mai frecvent s-a evidențiat asociația cu alela DQ_{w7} la nivelul locusului DQB.

A mai fost evidențiată o slabă asociație în NGIgA cu DR_4 și DR_5, ambele legate cu alele DQ_{w7}.

Observațiile imunogenetice privind variabilitatea antigenelor DQ ar pleda pentru faptul că NGIgA este o boală heterogenă.

Beukhof și colab. au apreciat că ar exista două subentități ale acestei boli.

Genele care sunt implicate în susceptibilitatea pentru GNIgA sunt reprezentate de cele care codifică receptorul limfocitului T, antigenele sistemului major de histocompatibilitate, proteinele sistemului complementar și citokinele.

Studiile genetice moleculare au identificat în sindromul Alport pe cromozomul X genele responsabile de producerea bolii Xq_{21-22}.

Gena COL_4A_5 de pe cromozomul Xp_{22} codifică un lanț nou de colagen $alfa_5$ implicat în patogenia bolii. Este posibil ca heterotrimerii care conțin $alfa_3$ (IV), care este un lanț monomeric de colagen, nu poate să se asambleze în absența unui lanț $alfa_5$ (IV) funcțional (Atkin și Gregory).

Probabil studiile de genetică moleculară vor aduce în viitor informații mult mai complete privind intervenția factorilor genetici în patologia de natură imună glomerulară.

PROGRESE ÎN IMUNOLOGIA NEFROPATIILOR GLOMERULARE

Prof. dr. GHEORGHE GLUHOVSCHI
Clinica de Nefrologie
Universitatea de Medicină și Farmacie
Timișoara

ABREVIERI

LFA=lymphocyte function activator
ELAM=endothelial-leukocyte adhesion molecule
ICAM=intercellular adhesion molecule
VCAM=vascular-cell adhesion molecule
PECAM=platelet-endhotelium adhesion molecule
MB=membrana bazală
VLA=very late activation antigen
PAF=platelet activating factor – factorul de activare plachetară
IL=interleukina
GN=glomerulonefrită
MCP=Monocyte chemoattractant protein
GM-CSF=Granulocyte Monocyte-colony stimulating factor

În capitolul precedent am prezentat stadiul actual al cunoştinţelor privind mecanismele imune implicate în patogeneza nefropatiilor glomerulare. Se impune o prezentare a principalelor direcţii în evoluţia cunoştinţelor rezultate în urma cercetărilor de dată foarte recentă din acest domeniu.

Unul din progresele recente în imunologie îl reprezintă descoperirea principalelor implicaţii patogenice ale moleculelor de adeziune în diverse procese patologice. Participarea acestora în procesele inflamatorii de natură imună cât şi neimună este amplu investigată în nefrologie. Astfel moleculele de adeziune sunt implicate în perturbările imune care determină proteinuria.

Factorii reglatori vasculari de tipul oxidului nitric şi ai endotelinei influenţează procesele inflamatorii care se desfăşoară în cursul proceselor imune. Se impune modularea acestora.

Evidenţierea unei populaţii de celule imune mai puţin cunoscută la nivelul rinichiului, respectiv a celulelor dendritice, celule recunoscute ca şi celule prezentator de antigen, lărgeşte gama celulelor care au un rol în procesele imune de la nivelul glomerulului.

Participarea sistemului complementar cunoscută în nefropatiile mediate imun mai mult prin implicarea proteinelor acestui sistem provenite din ser, s-a lărgit prin demonstrarea producerii la nivelul procesului inflamator renal de către celulele care participă la acest proces a elementelor componente ale sistemului complementar.

Celulele mezangiale se află în strânsă dependenţă de factorii imuni şi în primul rând de citokine şi de factorii de creştere. Ele sunt la rândul lor producătoare de astfel de factori. Proliferarea celulelor mezangiale care este evidenţiată în numeroase glomerulonefrite este în strânsă relaţie cu citokinele, factorii de creştere, endotelina, eicosanoizii, componente ale matricii, imunoglobulinele şi cu componente ale sistemului complementar. Procesul proliferativ mezangial se află sub reglare autocrină cât şi paracrină.

Citokinele şi factorii de creştere au un rol important în producerea matricei mezangiale. Rolul acestei matrici în procesele imune este deosebit de important.

Principalele nefropatii în care s-au evidenţiat progrese în cunoaşterea mecanismelor imune care le realizează sunt reprezentate de către NGIgA şi NG rapid progresive. Considerăm deosebit de utilă prezentarea principalelor direcţii în evoluţia cunoştinţelor privind patologia imună glomerulară dat fiind progresele spectaculare observate de la an la an.

MOLECULE DE ADEZIUNE ÎN PATOLOGIA RENALĂ

Moleculele de adeziune reprezintă un grup de substanţe de natură proteică, care mijlocesc adeziunea unor celule cu alte celule, sau a celulelor de matrice. În literatura de specialitate se utilizează şi termenul de proteine de adeziune.

Cercetările nefrologice din ultimul timp acordă o atenţie crescută moleculelor de adeziune în patologia renală de natură imună. Acest lucru se datorează şi suprafeţei mari endoteliale pe care o reprezintă capilarele glomerulare, la nivelul cărora se desfăşoară importante procese inflamatorii. Ele implică interrelaţii între leucocite şi celulele endoteliale, în care sunt interesate şi moleculele de adeziune celulară, întrucât adeziunea leucocitelor de endoteliu este dependentă de aceste proteine. (Bannister şi colab., Briscoe şi colab.). Moleculele de adeziune sunt prezente şi la nivelul celorlalte celule glomerulare, respectiv la suprafaţa celulelor mezangiale şi epiteliale, precum şi la nivelul celulelor tubulare. Ele vor interveni în procesele inflamatorii de natură imună care se desfăşoară la nivelul rinichiului.

Principalele molecule de adeziune care participă la aceste procese sunt reprezentate de către integrine, selectine, precum şi de grupul moleculelor de adeziune imunoglobulin-like.

În general, procesul inflamator se însoţeşte de expresia moleculelor de adeziune care permit migrarea şi adeziunea celulelor circulante în ţesutul în care acesta se desfăşoară. Mediatorii rezultaţi consecutiv inflamaţiei, de tipul citokinelor ca şi al fracţiilor complementului activate, modifică expresia moleculelor de adeziune de tipul selectinelor de către celulele endoteliale. Celulele circulante vor suferi un proces de adeziune, iar apoi vor rula la nivelul suprafeţei celulelor endoteliale. Ulterior, expresia unui alt tip de molecule de tipul $beta_2$ integrinelor pe suprafaţa celulelor leucocitare, ca şi inhibiţia

selectinelor, vor determina ca sub influența unor factori chemotactici, leucocitele circulante să traverseze endoteliul, migrând în focarul inflamator.

În afară de această acțiune, moleculele de adeziune modifică funcțiile celulare în cursul procesului de adeziune celulă-celulă și celulă-matrice.

Aceasta se produce prin ancorarea celulelor de substrat sau de alte celule, urmată de transducerea semnalului generat de ele prin intermediul receptorilor. Prin aceasta se realizează o costimulare. Există concomitent o cooperare bidirecțională între moleculele de adeziune și stimulii imuni.

Astfel, expresia și funcționalitatea moleculelor de adeziune sunt stimulate de către factorii imuni, procesul de adeziune crescând în același timp răspunsul limfocitar la stimuli imuni (Cosio și Orosz).

Pentru o mai bună înțelegere a acțiunii moleculelor de adeziune în cursul procesului inflamator de natură imună din nefropatii, considerăm utilă prezentarea unei clasificări a lor.

Moleculele de adeziune celulară se clasifică în mai multe grupe (Cosio și Orosz):

1. Beta 1 integrine: alfa$_1$ beta$_1$, alfa$_2$ beta$_1$, alfa$_3$ beta$_1$, alfa$_4$ beta$_1$, alfa$_5$ beta$_1$, alfa$_6$ beta$_1$, alfa$_v$ beta$_1$

2. Beta 2 integrine: – alfa$_1$ beta$_2$ (LFA–1, CD_{11a}/CD_{18}) LFA = lymphocyte function activator – alfa $_M$ beta$_2$ (CR3, CD_{11b}/CD_{18})
CR3 = complement receptor type 3 – alfa$_x$ beta$_2$ (CD_{11c}/CD_{18})

3. Beta 3 integrine: alfa$_v$ beta$_3$, alfa$_{11b}$ beta$_3$

4. Selectine: L – selectina, E – selectina (ELAM–1), P – selectina
ELAM = endothelial-leukocyte adhesion molecule

5. Cadherine: E – cadherina (epitelială), N – cadherina (neurală), P – cadherina (placentară), L – cadherina (hepatică)

6. Molecule de adeziune celulară imunoglobulin-like: ICAM–1, ICAM–2, VCAM–1, PECAM–1.

ICAM = intercellular adhesion molecule;
VCAM = vascular-cell adhesion molecule;
PECAM = platelet-endhotelium adhesion molecule

Integrinele reprezintă un grup important de proteine cu rol de adeziune care intervin în procesele inflamatorii renale de natură imună. Ele au roluri importante asemănătoare cu ale celorlalte molecule de adeziune:

– realizează adeziunea celulelor, respectiv a celulelor glomerulare de matricea extracelulară;

– permit adeziunea celulelor una de alta, ca de exemplu a neutrofilului de celula endotelială, o serie de acțiuni intercelulare realizându-se prin intermediul lor;

– intervin în transmiterea informațiilor la nivel celular de la exterior la interior.

La nivelul celulelor glomerulare se exprimă receptori de tip integrinic.

Astfel, celulele endoteliale umane exprimă integrine de tip $alfa_1$ $beta_1$, $alfa_2$ $beta_1$, $alfa_3$ $beta_1$, $alfa_5$ $beta_1$.

Celulele endoteliale de şobolan în cultură exprimă pe lângă integrinele de mai sus şi integrine $alfa_v$ $beta_1$ şi $alfa_v$ $beta_3$ (Adler şi Eng).

Celulele mezangiale exprimă integrine $alfa_1$ $beta_1$, $alfa_2$ $beta_1$, $alfa_3$ $beta_1$, $alfa_5$ $beta_1$, $alfa_6$ $beta_1$, $alfa_v$ $beta_5$ (Cosio şi Orosz).

Celulele epiteliale exprimă integrine de tipul $alfa_3$ $beta_1$, $alfa_2$ $beta_1$ (Adler şi Eng, Cosio şi colab. Cybulski şi colab.).

Celulele epiteliale ale tubului distal exprimă integrine $alfa_2$ $beta_1$, $alfa_3$ $beta_1$, $alfa_6$ $beta_1$.

Vasele sanguine renale exprimă receptori $alfa_3$ $beta_1$, $alfa_5$ $beta_1$ (Cosio şi Orosz).

Ele permit legarea acestor celule de:

– laminina şi colagen prin intermediul integrinelor $alfa_1$ $beta_1$, $alfa_2$ $beta_1$, $alfa_3$ $beta_1$;

– fibronectina prin intermediul integrinelor $alfa_3$ $beta_1$, $alfa_5$ $beta_1$.

Legarea celulelor endoteliale de MB glomerulară se face prin intermediul integrinelor, fapt care evidenţiază importanţa acestora în funcţionalitatea normală a rinichiului. De asemenea, integrinele asigură ataşarea celulelor endoteliale de matricea mezangială. Adler şi Eng consideră că celulele endoteliale aderă prin intermediul receptorilor pentru integrine beta 1, de componente ale matricei prezente şi în MB glomerulară: fibronectina, laminina, colagenul I şi IV. Integrinele se concentrează în porţiunea celulei endoteliale adiacentă MB glomerulare (Adler şi Eng). Se consideră că aceşti receptori ar interveni în interacţiunea dintre MB glomerulară şi celula endotelială (Kerjaschki şi colab.).

Producerea de integrine se află în relaţie cu acţiunea unor citokine, ca de exemplu factorul de transformare al creşterii beta. Acesta stimulează celulele mezangiale determinând o producţie crescută de integrine.

În bolile glomerulare mediate prin intermediul complexelor imune se produce o interesare a relaţiei dintre celulele endoteliale şi MB, mediată prin intermediul integrinelor. În unele boli glomerulare complexele imune se depun subendotelial, cu detaşarea acestor celule de MB glomerulară. Ca urmare se produce o alterare a permeabilităţii. După Adler şi Eng depozitarea subendotelială de proteine, asociată cu detaşarea endoteliului de MB glomerulară, sunt observate în purpura trombotica trombocitopenică, hipertensiunea malignă, toxemia de sarcină, glomerulonefrita proliferativă din lupus, boli care prezintă frecvent o leziune glomerulară severă, cu alterarea funcţiilor renale (Adler şi Eng). Ele s-ar însoţi de perturbări ale interrelaţiei dintre celulele endoteliale şi MB care se realizează prin intermediul moleculelor de adeziune, respectiv prin intermediul integrinelor.

Integrina $alfa_3$ $beta_1$ reprezintă principala moleculă de adeziune între celulele epiteliale viscerale glomerulare. Ea este prezentă pe părţile laterală şi

bazală ale suprafeței podocitelor. Pe aceste celule se mai află și o altă integrină: alfa$_v$ beta$_8$, care reprezintă un receptor pentru vitronectină.

Aceste două integrine se exprimă și pe suprafața celulelor endoteliale glomerulare (Baraldi și colab.).

Într-un studiu experimental privind glomerulonefrita proliferativă mezangială la șobolan de tip Thy 1, Roy-Chaudhury și colab. au evidențiat o creștere semnificativă la nivel glomerular și interstițial a expresiei integrinelor leucocitare LFA–1 (CD_{11a}/CD_{18}) și CD_{11b}/CD_{18}.

Roy-Chaudhury și colab. consideră că localizarea neutrofilelor și celulelor mononucleare în mezangiu în acest model incriminează interacțiuni CD_{11}/CD_{18}.

Studiile lui Lefkowith și WU au demonstrat atenuarea GN mediate imun prin utilizarea anticorpilor monoclonali anti CD_{11b}. Rolul beta$_2$ integrinelor, VLA–4 și ICAM–1 a fost investigat de Mulligan și colab. în nefrita nefrotoxică.

Anticorpii monoclonali anti CD_{18} inhibă infiltrarea glomerulară cu polimorfonucleare, precum și medierea de către acestea a proteinuriei în timpul fazei acute a GN experimentale mediată prin anticorpi anti MB glomerulară. Acești anticorpi ar preveni inflamația glomerulară împiedicând adeziunea endotelială a polimorfonuclearelor, migrarea acestora în țesuturi, precum și inhibiția funcțiilor polimorfonuclearelor.

Inhibiția adeziunii polimorfonuclearelor previne citotoxicitatea, și totodată previne stimularea sintezei de leukotriene secundară acțiunii intercelulare. După Cosio și Orosz, prezența moleculelor de adeziune celulară în rinichi și modificările acestora în timpul inflamației renale, sugerează că acestea participă la procesele inflamatorii renale (Cosio și Orosz).

Sistemul *selectinelor* este compus din glicoproteine transmembranare formate dintr-un singur lanț. Se descriu 3 selectine: E-selectina (ELAM–1), L-selectina și P-selectina.

E-selectina nu se exprimă în endoteliul normal. În condiții patologice, sub influența interleukinei 1 și a factorului de necroză tumorală, endoteliul exprimă E-selectina. Exprimarea acesteia poate avea loc la nivelul endoteliului glomerular și artriolar. E-selectina are un rol important în adeziunea leucocitară și în migrarea prin endoteliu. Ea a fost pusă în evidență în glomerulonefrita cu anticorpi anti MB glomerulară la șobolani de către Mulligan și colab. Laszik și colab. citați de Cosio și Orosz au evidențiat expresia E-selectinei în rinichiul de șobolan în cursul șocului septic. Hunt, investigând secțiuni de rinichi provenite de la bolnavi cu diabet zaharat și pielonefrita cronică, evidențiază la unii bolnavi prezența E-selectinei la nivelul endoteliului glomerular și arteriolar.

L-selectina este o selectină care mediază legarea de endoteliu a neutrofilelor, monocitelor și limfocitelor circulante.

Recent s-a demonstrat ca ELAM–1 reprezintă o moleculă de adeziune pentru leucocitele T. Ea ar putea constitui un marker al inflamaţiei imunologice (Bender).

În afară de proteinele de adeziune prezentate mai sus rinichiul mai poate exprima:

– Molecula 1 de adeziune intercelulară – intercellular adhesion molecule (ICAM–1). Ea se evidenţiază la nivelul celulelor glomerulare, în celulele interstiţiale şi în unele din celulele capilarelor peritubulare.

– Molecula 2 de adeziune intercelulară – intercellular adhesion molecule (ICAM–2). Are un rol în procesele de adeziune mai puţin bine definite. Are un ligant pentru LFA–1.

Adezinele de la suprafaţa celulelor endoteliale, ICAM–1 şi ICAM–2, par a contribui la adeziunea şi transmigrarea marii majorităţi a leucocitelor prin interacţiune cu integrinele beta 2. Neutrofilele, monocitele, limfocitele şi celulele NK exprimă adezina LFA–1 care se leagă fie de ICAM–1, fie de ICAM–2 (Bevizilacqua).

– Molecula de adeziune a celulelor vasculare 1 – vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM–1). Ea se evidenţiază în principal la nivelul celulelor parietale din capsula lui Bowman. VCAM–1 a fost pusă în evidenţă în special în mezangiul glomerular (Marsden şi colab.). Această moleculă de adeziune nu este prezentă la nivelul celulelor endoteliale renale.

Garner şi colab. au evidenţiat expresia ICAM–1 şi VCAM–1 la nivelul celulelor epiteliale glomerulare aflate în cultură.

Expresia VCAM–1 a fost stimulată de factorul de necroză tumorală alfa şi de interleukina 1 beta, fiind redusă de interferonul gama.

Factorul de necroză tumorală alfa modifică expresia lui ICAM–1, fără ca aceasta să fie modificată semnificativ de interleukina 1 şi interferonul gama. Adeziunea polimorfonuclearelor de celulele epiteliale este mediată prin intermediul interacţiunii dintre ICAM–1 şi LFA–1. Ele ar juca un rol important în inflamaţia extracapilară (Garner şi colab.).

LFA–1 (lymphocyte function-associated antigen–1) este o integrină exprimată de celulele din linia hematopoietică, incriminată în adeziuni intercelulare de tipul limfocit – celula accesorie, limfocit – celula ţintă şi interacţiuni limfocit – celula endotelială (Bender).

ICAM–1 reprezintă cel mai puternic ligand cunoscut pentru LFA–1.

Tratamentul celulelor epiteliale în cultură prin intermediul factorului de necroză tumorală alfa, determină o creştere importantă a expresiei ICAM–1. Ea induce şi expresia antigenelor clasei a II-a a complexului major de histocompatibilitate la nivelul celulelor epiteliale glomerulare (Moutabarrik şi colab.).

Parra și colab. au evidențiat o creștere a expresiei ICAM–1 și LFA–1 la nivelul glomerulului și interstițiului în faza acută a glomerulonefritei acute, creștere care ar putea contribui la o recrutare a leucocitelor în această boală.

Studiile lui Sato și colab. semnalează expresia ICAM–1 la nivelul glomerulului numai pe celule endoteliale provenite din rinichi normali.

Această expresie este întâlnită și în cazuri de GNIgA cu anomalii minore glomerulare. În schimb, în GNIgA cu proliferare mezangială, expresia ICAM–1 este prezentă nu numai pe celulele endoteliale, ci și pe cele mezangiale.

Se presupune că ICAM–1 poate juca un rol important în proliferarea celulelor mezangiale, și ar putea facilita adeziunea dintre celulele mezangiale și macrofage, ca și dintre celulele mezangiale propriu-zise.

Nivelul circulant al moleculelor de adeziune poate reflecta activitatea unei leziuni endoteliale, motiv pentru care pot fi utilizate ca și markeri în vasculite. Astfel, Pall și colab. au evidențiat o relație între nivelul circulant al ICAM–1 și ELAM–1 în vasculite. ICAM–1, VCAM–1 și ELAM–1 au fost evidențiate în serul pacienților cu rejet de grefă.

La nivelul celulelor endoteliale se mai exprimă ca și proteine de adeziune LFA–3 și Hialuronatul.

LFA–3 este o glicoproteină de suprafață pe care o prezintă celulele endoteliale, și care interacționează cu o moleculă de adeziune limfocitară, CD 2.

Un glicozaminoglican, Hialuronatul, prezent la nivelul celulelor endoteliale, funcționează ca și ligand pentru CD_{44}, o moleculă membranară glicozilată leucocitară.

Se obține astfel adeziunea limfocitară de endoteliu.

Acțiunea acestor două proteine de adeziune la nivelul endoteliului renal nu este încă precizată.

Celulele tubulare exprimă în cultură integrine din grupul $beta_1$ și $beta_3$ în combinație cu diferite lanțuri alfa. În consecință, celulele tubulare vor prezenta specificități ce vor viza extracelular fibrinogenul și factorul Willebrand. Ca urmare, ele vor adera de proteinele plasmatice extravazate în condițiile unei permeabilități crescute, așa cum se observă în cursul inflamației (Peruzzi și colab.). Se consideră că celulele tubulare aflate sub influența citokinelor eliberate la acest nivel vor interveni direct în progresiunea leziunii renale (Peruzzi și colab.).

Participarea moleculelor de adeziune la procesele inflamatorii renale a atras atenția asupra intervenției posibile a acestora în reacția de rejet a grefei renale (Full și Russ).

În cursul fenomenului de rejet al allogrefei renale participă limfocitele T care domină procesul inflamator. Polimorfonuclearele sunt și ele prezente în cursul rejetului acut. Endoteliul vascular al rinichiului grefat reprezintă și el o structură antigenică. Se realizează o situație cu totul particulară, în sensul că endoteliul va permite trecerea celulelor sanguine la nivelul focarului inflamator, el fiind în același timp țintă a agresiunii imune.

Se apreciază că participarea celulelor imune în procesele inflamatorii din cursul grefei renale impune participarea moleculelor de adeziune activate. Studiile în această direcție sunt puține. S-a constatat expresia ICAM–1 în cantitate crescută la nivelul celulelor tubulare renale în cursul rejetului allogrefei renale (Andersen și colab.).

Savin și colab. au investigat interrelația între tratamentul cu ciclosporină și expresia moleculelor de adeziune intercelulară 1 (ICAM–1). La pacienții care prezentau nefropatie la ciclosporină, ICAM–1 se exprimă în cantitate crescută.

Cunoașterea expresiei moleculelor de adeziune în cursul procesului inflamator din cursul grefei ar putea permite controlul terapeutic al acestuia, cu efecte clinice favorabile.

Astfel, Le Mauf și colab. citați de Cosio și Orosz, au utilizat anticorpi monoclonali anti LFA–1_1 (CD_{11a}), în scopul diminuării rejetului acut al rinichiului transplantat.

Studiul moleculelor de adeziune în bolile renale mediate imun deschide perspective importante, atât în cunoașterea acestor boli, cât și în modularea terapeutică a evoluției lor (Bannister și colab.).

PARTICIPAREA ENDOTELINELOR ÎN PROCESELE INFLAMATOARE DE NATURĂ IMUNĂ DE LA NIVELUL RINICHILOR

Endotelinele reprezintă peptide care desfășoară o acțiune vasoconstrictoare puternică la nivelul vaselor sanguine. Ele posedă activități diverse în relație cu celula căreia i se adresează. Astfel, în funcție de celula țintă, endotelinele pot acționa ca și agent vasoactiv, factor de creștere, și chiar ca neuropeptid (Simonson). Principala lor acțiune este cea de reglare a tonusului vascular.

Se descriu trei endoteline, 1, 2 și 3, care sunt produse în principal de endoteliul vascular, și care își exercită la rândul lor acțiunea vasoconstrictoare asupra acestuia prin intermediul receptorilor specifici. Se descriu receptori pentru endotelina de tip A și de tip B (Raret și colab.). Recent au fost sintetizați atât agoniști, cât și antagoniști ai receptorilor pentru endoteline. A fost descris relativ recent un nou peptid din familia endotelinelor denumit vasoactive intestinal constrictor, mult mai puțin studiat până în prezent (Saida și colab.).

Receptori funcționali pentru endotelina 1 au fost evidențiați pe podocitele și celulele mezangiale (Rebibou și colab.)

Endotelina 1 rezultă dintr-un precursor preproendotelina care e clivat într-un precursor care are o greutate moleculară mare, asupra căruia acţionează o enzimă de conversie a endotelinei (Karet şi Davenport).

Rinichiul produce endotelina 1 într-o cantitate mai mare şi endotelina 2 într-o cantitate mult mai redusă. Rinichiul posedă receptori pentru endotelina de tip A şi de tip B. Receptorii de tip B predomină la nivelul rinichiului.

Rinichiul posedă capacitatea de a degrada enzimatic endotelinele 1, 2 şi 3. Endotelina 1 urinară provine în cea mai mare parte din rinichi, şi numai o mică parte din endotelina circulantă (Brenner, King).

Endotelinele de la nivelul rinichiului sunt produse de către celulele endoteliale, mezangiale, epiteliale, celulele musculare netede vasculare şi, în principal, de către celulele tubului colector. Endotelina 1 produsă de către celulele tubulare ar putea funcţiona ca şi un hormon paracrin cu rol reglator al funcţiilor tubulare (Uchida şi colab.). Celulele endoteliale produc endotelina 1 care este eliberată în cea mai mare parte la nivelul interstiţiului, de unde va interacţiona cu celelalte celule ale nefronului producătoare de endotelină.

Eliberarea de către celulele endoteliale a endotelinei 1 se face în cursul procesului inflamator care se desfăşoară la nivelul rinichiului sub acţiunea unor factori care sunt produşi pe măsura desfăşurării sale: factorul de necroză tumorală, factorul de transformare al creşterii beta, interleukina 1.

De asemenea, reglarea eliberării de către celulele endoteliale a endotelinei 1 se face şi de către endotelina 1, endotelina 3, trombina şi alţi factori vasoactivi care stimulează celulele endoteliale în producerea de endotelină 1: angiotensina II, vasopresina şi epinefrina (Kohan).

Celulele mezangiale ca şi celulele endoteliale sunt producătoare de endotelina 1. Celulele epiteliale sunt purtătoare de endotelină 1 şi 3, fapt demonstrat la şobolan, dar neconfirmat la om.

Cea mai mare cantitate de endotelină 1 este produsă la nivelul porţiunii de la nivelul medularei interne a tubului colector.

Acţiunea endotelinei 1 asupra celulei mezangiale se face prin receptorii pentru endotelina A şi B. Ea se manifestă prin inducerea unui efect proliferativ ca şi al unuia contractil. Celulele mezangiale sintetizează endotelina 1, sugerând atât o acţiune autocrină, cât şi una paracrină.

La rândul său, acţiunea acestei endoteline 1 asupra celulei endoteliale are drept consecinţă producerea de către acestea de substanţe vasodilatatoare de tipul factorului de relaxare provenit de la nivelul celulelor endoteliale.

Acestea vor limita acţiunea endotelinei, acţionând ca un mecanism reglator. În acelaşi timp, endotelina poate induce la nivelul celulei endoteliale proliferarea acesteia, eliberarea de PGI_2 şi diminuarea eliberării de către celulele endoteliale a activatorului plasminogenului tisular.

La nivelul celulei epiteliale acţiunea nu este cunoscută, dar se observă o creştere de scurtă durată a calciului la nivelul podocitelor sub acţiunea endo-

telinei 1. Evidențierea acestei acțiuni, ca și a receptorilor pentru endotelina 1 la nivelul celulelor epiteliale ca și a celor mezangiale ar pleda pentru faptul că endotelina 1 ar regla rata filtrării glomerulare printr-o cale autocrină-paracrină prin intermediul acestor celule.

O acțiune importantă o exercită endotelina 1 asupra celulelor tubulare epiteliale, a căror funcție este reglată de asemenea prin mecanisme autocrine și paracrine.

Totodată o acțiune importantă se desfășoară la nivelul tubului proximal.

Endotelina ar acționa și la nivelul tubului colector. Efectul endotelinei asupra tubului colector din interiorul medularei este în principal natriuretic, blocând intrarea luminală a sodiului, probabil printr-o acțiune asupra activității adenozintrifosfatazei dependente de Na și K. Se produce și o inhibiție a reabsorbției de apă.

Acțiunea la nivelul tubului proximal s-ar exercita prin blocarea reabsorbției fluidelor.

Studiile experimentale au demonstrat ca și endotelina 3 reduce reabsorbția de apă la nivelul tubului colector.

Celulele musculare din pereții vaselor renale prezintă receptori pentru endotelina A și B. S-a evidențiat o mare sensibilitate a acestor celule pentru endotelina 1, care depășește cu mult pe cea a altor vase din organism.

Endotelina 1 joacă un rol important în hemodinamica renală, producând o vasoconstricție a arterelor interlobulare cât și a arteriolelor aferente și eferente. În faza inițială ea poate fi însoțită uneori de o fază scurtă de vasodilatație.

Endotelina 1 diminuă filtrarea glomerulară ca și fluxul sanguin renal. Spre deosebire de endotelina 1, endotelina 3 poate induce o creștere cu 20% a fluxului sanguin renal, fără modificarea debitului de filtrare. În administrarea de durată, ea duce la diminuarea fluxului sanguin renal.

Endotelina 1 stimulează eliberarea de renină de către celulele aparatului juxtaglomerular, ca și sinteza și eliberarea factorului natriuretic. Prin această acțiune endotelina intervine în homeostazia renală.

Endotelinele 1 și 3 își execită efectele prin intermediul unor mediatori de tip PAF (factorul de activare plachetară – platelat activating factor), care ar fi un puternic vasoconstrictor.

În acelaș timp ele determină o producție crescută a unor prostaglandine de tip vasodilatator PGE_2 și PGI_2.

Se suspectează o intervenție a endotelinelor în procesele inflamatorii renale.

În acest sens se menționează de către Kohan acțiunea de stimulare a producției de endotelină 1 de către mai multe tipuri de celule renale, de către mediatori imuni ai inflamației de tipul interleukinelor (factorul de transformare al creșterii beta, factorul de necroză tumorală, interleukina 1), ai factorului de creștere derivat din plachete și de către tromboxan.

În același timp se remarcă o serie de acțiuni importante ale endotelinei 1 de tipul proliferării celulelor glomerulare.

La aceasta ar participa acțiunea chemotactică a endotelinei 1 pentru monocite. Recrutarea celulelor inflamatorii și activarea lor prin intermediul endotelinei 1 ar interveni în modularea proliferării celulare, și posibil în acumularea matricei extracelulare (Kohan).

Se atribuie endotelinelor o participare la producerea nefropatiei diabetice. Totodată s-a demonstrat că endotelina reprezintă un mediator al nefrotoxicității ciclosporinei.

Utilizarea antagoniștilor receptorilor endotelinici are un efect protectiv asupra toxicității ciclosporinei (Fogo și colab.).

S-a demonstrat rolul endotelinelor în medierea acțiunii endotoxinelor asupra rinichiului. Astfel, administrarea la șobolani cu șoc endotoxinic produs de endotoxina E. Coli, a unui ser antiendotoxină printr-o perfuzie într-o arteră renală, a ameliorat hipofiltrația acestui rinichi în comparație cu rinichiul controlateral (Kon și Badr).

De asemenea s-a observat un rol important al endotelinelor în condițiile ischemiei renale. Ocluzia renală bilaterală la animal se însoțește de creșteri de 20 de ori ale nivelului endotelinei în țesutul renal, fără o creștere a acesteia în circulație.

Dacă se administrează anticorpi monoclonali față de endotelină înainte și după ocluzia intestinală, se realizează un efect protectiv celular, împiedicându-se dezvoltarea edemului și a leziunilor histologice (Shibouta și colab. citați de Kon).

Întrucât leziunile tisulare renale pot activa producerea locală de endoteline la nivelul endoteliului renal, este posibilă o participare a acestora în procesele imune patologice care se desfășoară la acest nivel.

FACTORI REGLATORI VASCULARI AI PROCESULUI IMUN ÎN GLOMERULONEFRITELE DE NATURĂ IMUNĂ

Procesul inflamator reprezintă o succesiune de fenomene care se desfășoară în cascadă, pe parcursul cărora intervin o multitudine de mediatori și celule.

Acest proces se desfășoară într-o ordine care impune participarea a numeroase elemente de control. Între acestea, un rol important revine

citokinelor. În ultimul timp s-a remarcat intervenția factorului de activare plachetară, căruia i s-a atribuit o importanță deosebită în controlul cascadei de fenomene pe care o reprezintă inflamația. Întrucât procesul inflamator de natură imună impune participarea sistemului vascular, fiind însoțit de o puternică vasodilatație la care participă arterele, venele și capilarele, atenția a fost atrasă de factorii care sunt implicați în acest proces. Între aceștia un rol important pare să revină oxidului nitric. Acesta este activat de către efectorii procesului inflamator, și la rândul său va participa la controlul acestui proces.

Factorii locali vor interveni în limitarea procesului de vasodilatație în scopul reglării tonusului vascular, cu implicații asupra desfășurării procesului imun. Dintre aceștia se desprinde endotelina.

PARTICIPAREA OXIDULUI NITRIC ÎN PATOLOGIA IMUNĂ GLOMERULARĂ

Oxidul nitric reprezintă o substanță cu acțiune biologică importantă. El a fost identificat cu factorul de relaxare al endoteliului.

Oxidul nitric este evidențiat în principal la nivelul endoteliului vascular, unde are un rol important în medierea funcționalității acestuia. El este semnalat în numeroase celule din organism: celulele endoteliale, macrofage, leucocitele neutrofile, fibroblaști, neuroni etc.

Macrofagele activate sunt producătoare importante de oxid nitric, care este una din moleculele biologic active prin intermediul cărora își desfășoară activitatea. Aceasta face ca în cursul proceselor inflamatoare de etiologie diversă, inclusiv imună, în care participă aceste celule, să intervină și o producție crescută a oxidului nitric. Sinteza oxidului nitric a fost semnalată la nivelul mai multor țesuturi. Există două tipuri de sintetaze ale oxidului nitric: una dependentă de calciu și calmomodulină și una dependentă de citokine. (Bachman și colab., Sever și colab.)

Oxidul nitric ar îndeplini mai multe funcții biologice:

– controlul tonusului vascular și implicit al tensiunii arteriale prin intermediul acțiunii vasorelaxante pe care o induce asupra endoteliului și probabil și asupra musculaturii netede.

– crește permeabilitatea vasculară.

– are o acțiune citotoxică. Prin intermediul ei macrofagele ar acționa asupra microorganismelor, realizând o acțiune bactericidă. Metaboliții reactivi de nitrogen reprezintă moleculele efectoare care sunt responsabile pentru funcțiile antimicrobiene ale macrofagelor.

– s-a presupus că la nivelul neutrofilelor, oxidul nitric ar reacţiona cu superoxidul pentru a forma un anion peroxinitric care se va descompune în radicali toxici.

– o acţiune de neurotransmitator independentă de sistemul colinergic şi de cel adrenergic, acţiunea desfăşurându-se la nivelul neuronilor sistemului nervos central, unde ar avea şi o acţiune autocrină. Prin aceasta participă la modularea funcţiilor sistemului nervos central.

– o acţiune antiproliferativă care se desfăşoară atât autocrin, cât şi asupra altor celule ca limfocitele T, hepatocitele etc.

Se produce şi o supresie a proliferării celulare stimulate de către mitogeni. Prin aceasta oxidul nitric are un efect imunomodulant.

– la nivelul tumorilor, oxidul nitric desfăşoară o acţiune citostatică. Oxidul nitric realizează o inhibiţie a lanţului respirator mitocondrial.

– oxidul nitric produs de către celulele endoteliale şi de către plachete are şi o acţiune antitrombotică.

– oxidul nitric reduce adeziunea plachetară şi agregarea acestora. În acelaşi timp împiedică adeziunea leucocitelor (Kubes).

– acumularea de oxid nitric ca şi a nitrosothiolilor din cursul procesului inflamator acut, duce la ruperea homeostaziei imunochimice care permite acţiunea endotoxinelor (Gorbunov şi Esposito).

Vasele renale produc oxid nitric într-o cantitate importantă. Aceasta va contribui în mare măsură la reglarea hemodinamicii renale.

Se presupune că endoteliul vascular renal modulează în mod direct eliberarea de renină. Oxidul nitric secretat de celulele renale ar inhiba eliberarea renală de renină. Oxidul nitric ar media inhibiţia reninei ca şi o consecinţă a unui efect direct pe GMP ciclic, acţionând ca un inhibitor al moleculei de semnalizare (Pfeilschifter şi colab.).

La nivelul glomerulului se evidenţiază oxidul nitric atât în condiţii fiziologice, când este prezent într-o cantitate mai redusă, cât şi în condiţii patologice, în prezenţa unui proces inflamator de natură imună.

Oxidul nitric de la nivelul glomerulilor provine atât din celulele constitutive ale acestora, cât şi din macrofagele care provin din măduvă şi sunt ulterior rezidente într-un număr mic la nivelul glomerulului.

Tehnicile de culturi celulare au evidenţiat sinteza de oxid nitric la nivelul celulelor endoteliale şi mezangiale.

Nefritele experimentale au permis evidenţierea producerii de oxid nitric în cantitate crescută la nivelul glomerulilor.

Astfel, în nefrita nefrotoxică cu evoluţie accelerată în care leziunea renală este dependentă în principal de macrofage, se constată valori foarte mari ale producţiei de oxid nitric.

De asemenea, în glomerulonefrita experimentală acută cu formarea de complexe imune in situ, în care există de asemenea un infiltrat masiv de polimorfonucleare, se constată cantităţi mari de oxid nitric (Cook şi Sullivan).

Se pare că cea mai mare cantitate de oxid nitric de la nivelul glomerulului este produsă de macrofage și polimorfonucleare.

În nefrita Heymann, unde infiltratul celular cu macrofage este mai redus comparativ cu cele două tipuri de nefrite de mai sus, și cantitatea de oxid nitric este mult mai redusă.

În glomerulonefrita experimentală anti Thy 1,1 fenomenul este mai evident. Astfel, în faza mezangiolitică cu infiltrat macrofagic mai bogat, și producția de oxid nitric este mai mare, pe când în faza mezangială proliferativă, când infiltratul de macrofage este mai redus, și producția de oxid nitric este mai redusă.

După Cattell și Cook, în cursul proceselor imune din cadrul glomerulonefritelor se produc procese ce stimulează inducția sintetazei oxidului nitric la nivelul leucocitelor și celulelor intrinseci glomerulare. Ei apreciază că inducția acesteia se face prin intermediul citokinelor, existând o reglare a ei printr-o balanță între citokinele stimulatoare și cele inhibitoare, ca și de specificul răspunsului diferitelor celule care sunt prezente la nivelul glomerulului (Cattell și Cook).

Interferonul gama este o citokină care induce sinteza oxidului nitric la nivelul macrofagelor. Alte interleukine ca IL_4 și IL_{10} și factorul de transformare al creșterii beta, inhibă sinteza oxidului nitric de către macrofage. Sinteza de oxid nitric la nivelul polimorfonuclearelor neutrofile este inhibată de IL_8.

Producerea de oxid nitric la nivelul rinichiului, respectiv activarea căii L – arginină ND se realizează prin intermediul acțiunii citokinelor la nivelul celulelor mezangiale și endoteliale.

Celulele endoteliale glomerulare eliberează oxidul nitric. Acesta crește GMP-ul ciclic în celulele mezangiale. În același timp oxidul nitric produs de către celulele endoteliale inhibă contracția celulelor mezangiale.

Celulele mezangiale, sub influența citokinelor, eliberează un factor solubil care crește GMP ciclic în celulele din vecinătate. Acesta ar induce producerea de IL–1 ca și factorul de necroză tumorală alfa, care ar perpetua formarea de mediatori proinflamatori de către celulele mezangiale, între care și oxidul nitric (Pfeilschifter și colab.).

Astfel, la șobolan, IL_1 și factorul de necroză tumorală induc stimularea celulelor mezangiale în activarea acestei căi, în timp ce factorul de transformare al creșterii beta și factorul de creștere produs de către plachete acționează ca și inhibitori. O acțiune de stimulare o prezintă și interferonul gama:

Celulele endoteliale provenite de la bovine sunt stimulate de către factorul de activare plachetară, ca și de alți factori ca trombina, ATP și bradikinina.

Inducerea sintezei de oxid nitric se realizează nu numai prin intermediul balanței dintre citokine, dar și prin disponibilitatea de substrat și

cofactori de la nivelul micromediului zonei inflamatorii. Producerea sintezei de oxid nitric va suferi un declin odată cu reducerea infiltratului de macrofage în cursul nefritei experimentale (Cattell și Cook).

Producerea de oxid nitric duce în continuare la formarea de complexe de oxid nitric–fier sau de radicali de peroxinitriți care vor determina leziuni glomerulare. După Cattell și Cook, aceștia vor reprezenta modul principal de leziune glomerulară produsă de către macrofage (Cattell și Cook).

Se va realiza prin intermediul altor efecte ale oxidului nitric o acțiune glomerulară mult mai complexă:

– afectarea perfuziei glomerulare va influența contractilitatea celulelor mezangiale care controlează tonusul glomerular. O acțiune importantă o reprezintă inhibiția contracției celulei mezangiale prin intermediul angiotensinei.

– va influența infiltrația leucocitelor polimorfonucleare la nivelul leziunii glomerulare inflamatoare de natură imună. De asemenea va influența aderența acestor polimorfonucleare prin expresia moleculelor de adeziune.

– va influența procesele proliferative glomerulare. Intervenția oxidului nitric va fi influențată de către citokine.

Astfel, Pfeilschifter a evidențiat că factorul de creștere derivat din plachete inhibă sintetaza oxidului nitric din celulele mezangiale la șobolan. Garg și Hassid au semnalat o inhibiție a mitogenezei celulelor mezangiale la șobolan prin intermediul vasodilatatoarelor care generează oxid nitric.

După Cattell și Cook, creșterea oxidului nitric va determina proliferarea mezangială, în timp ce diminuarea oxidului nitric și creșterea producerii factorilor de creștere ar crea condiții pentru stimularea proliferării celulelor mezangiale.

Ele ar acționa și asupra plachetelor, influențând agregarea plachetară ca și adeziunea lor (Radomski și colab.).

Efectele inhibitorii asupra acestor procese ar acționa ca și un factor reglator asupra proceselor de tromboză pe care le poate genera oxidul nitric la nivelul endoteliului prin leziunea acestuia, fapt care ar împiedica exercitarea funcției sale anticoagulante.

După Schultz și Raij, oxidul nitric sintetizat endogen ar avea rol preventiv al trombozei glomerulare. Ei demonstrează totodată activarea sintezei de oxid nitric de către endoteliu consecutiv administrării de endotoxine.

S-a presupus un rol al oxidului nitric în inducerea proteinuriei prin modificările permeabilității capilare glomerulare pe care le poate genera. Cattell și colab. nu au evidențiat o relație între sinteza de oxid nitric și proteinurie în nefrita experimentală de tip Heymann.

Oxidul nitric ar juca un rol imunosupresiv. După Cattell și Cook, sinteza de oxid nitric din macrofagele rezidente în unele glomerulite experimentale ar modula interacțiunile imunologice locale, în special ale limfocitelor T.

Sarrel şi colab. au emis ipoteza intervenţiei oxidului nitric în patogeneza preeclampsiei. Ei susţin că o creştere a hemoglobinei libere în ser ar inhiba efectele oxidului nitric produs de către endoteliu, fapt care va determina o vasoconstricţie generalizată. Secundar se dezvoltă o hipertensiune şi o leziune glomerulară importantă.

Studiile lui Baylis au demonstrat la şobolani că inhibiţia competitivă a sintetazei oxidului nitric pe o perioadă de timp determină o vasoconsticţie renală importantă şi hipertensiune.

În insuficienţa renală ar fi posibil ca perturbările sintezei de oxid nitric să joace un rol important.

Astfel, Vallance şi colab. au demonstrat în insuficienţa renală cronică acumularea de dimetilarginina, un inhibitor endogen al sintezei de oxid nitric. Acesta ar interveni în producerea hipertensiunii din cursul insuficienţei renale cronice. Totodată ar diminua reacţiile de apărare ale gazdei (Vallance şi colab.).

Se presupune că modificările în permeabilitatea vasculară şi ale fluxului sanguin din diabet s-ar datora unei producţii crescute de oxid nitric (Cattel şi Cook).

De altfel se pune în discuţie o posibilă intervenţie a oxidului nitric în producerea matricei mezangiale.

Se consideră că tulburările hemodinamice care sunt consecinţa reducerii masei renale şi care duc la glomeruloscleroza focală şi segmentală, ar fi influenţate de sinteza de oxid nitric. Afectarea acesteia prin reducerea masei renale ar putea determina procesele de scleroză de la nivelul rinichiului.

Implicarea complexă a oxidului nitric în patogenia nefritelor imune, ca şi descoperirea de substanţe care îi pot modula acţiunea, ar putea deschide noi perspective de tratament în aceste boli (Palmer şi colab.).

ROLUL CELULELOR DENDRITICE ÎN PROCESELE IMUNE CARE AU LOC ÎN GLOMERULONEFRITE

În ultimul timp se acordă o atenţie sporită celulelor care participă la procesul imun din nefropatii alături de celulele mezangiale şi de celelalte celule ale nefronului.

O populaţie de celule imune care este studiată în ultimul timp este reprezentată de către celulele dendritice. Aceasta este o populaţie celulară heterogenă care provine din măduvă de unde trece în sânge, reprezentând o

mică proporție din monocitele circulante. Se apreciază că celulele dendritice sanguine ar reprezenta 1/100.000 din monocitele circulante.

De aici, celulele dendritice vor trece în diferite țesuturi, între care o parte și la nivelul rinichiului. Se consideră că două organe nu prezintă celule dendritice: creierul și corneea.

Ganglionii limfatici conțin celule dendritice care provin din țesuturile eferente. Există celule dendritice cu interdigitațiuni, dispuse cortical, care au o viață scurtă de câteva zile, și celule dendritice foliculare, dispuse în zona foliculară și care au o viață mai lungă de câteva luni.

Celulele dendritice sunt celule prezentatoare de antigene. Ele posedă la suprafața antigene de histocompatibilitate din clasa I și II. Caracteristic acestor celule este prezența la suprafața lor a antigenelor CD 1, care joacă un rol în prezentarea antigenelor. Antigenele HLA DR sunt prezente deasemenea la suprafața celulelor dendritice.

Celulele dendritice prezintă antigenele limfocitelor T activate, ele jucând rol de celule accesorii. Celulele dendritice vor secreta citokine de tipul interleukinei 1, interleukinei 2, interferonului gama și factorului de necroză tumorală, prin care influențează activitatea altor celule în procesul imun. Celulele dendritice produc și un factor de creștere al limfocitelor T, prin care influențează aceste celule.

Celulele dendritice inițiază unele răspunsuri imune ca sensibilizarea celulelor T, rejetul transplantului de organ și formarea anticorpilor dependenți de limfocitele T (Steinmann). Ele au un rol de santinelă în cadrul procesului imun.

Un rol important îl reprezintă captarea antigenelor in situ.

Celulele dendritice sunt prezente constant la nivelul procesului inflamator interstițial, atât în glomerulonefritele proliferative, cât și în cele neproliferative. Hooke a emis ipoteza ca reacțiile inflamatorii interstițiale ar reprezenta o formă de hipersensibilitate întârziată (Hooke și colab.). Antigene fie exogene, fie endogene, prezente în interstițiu, pot determina reacții de hipersensibilitate tardivă, fenomen demonstrat la animal de Bannister și colab (Bannister și colab.).

Cuzic și colab. consideră că celulele dendritice care posedă antigene CD 1 la suprafață ar prezenta limfocitelor antigenele prezente in situ la nivelul interstițiului (Cuzic și colab.).

Citokinele produse de către celulele dendritice prezente în interstițiu, determină o exprimare într-o proporție crescută a antigenului HLA–DR la suprafața celulelor parenchimatoase renale. Acest fapt permite dezvoltarea unei reacții de hipersensibilitate tardivă la nivelul interstițiului în cursul glomerulonefritelor. Ar exista după Cuzic și colab. o sensibilizare inițială produsă de antigeni necunoscuți, după care un antigen secundar ar determina activarea celulelor dendritice, care vor prezenta antigenele limfocitelor T.

Prin acest proces se produce un proces de autoperpetuare a glomerulonefritei. Cele două procese, respectiv expresia antigenelor HLA–DR și reacția de hipersensibilizare tardivă ar coexista.

Studiile lui Cuzic și colab. au demonstrat totodată că în glomerulii normali, fără inflamație interstițială, celulele dendritice producătoare de antigene CD 1b sunt absente, ca de altfel și în glomerulonefritele fără inflamație interstițială activă, independent de extinderea leziunii glomerulare, fibroza interstițială și atrofia tubulară constatate.

La bolnavii cu GNIgA, ei evidențiază celule dendritice în vecinătatea glomerulilor care prezintă semilune sau scleroză glomerulară cu lezarea capsulei lui Bowman (Cuzic și colab.).

În mod normal, celulele endoteliale și unele celule din aria mezangială exprimă antigene HLA–DR. Celulele epiteliale tubulare proximale vor exprima aceste antigene numai în prezența celulelor dendritice, fenomen mediat probabil de citokine de tipul interferonului gama.

Se poate considera că prezența celulelor dendritice este importantă în cadrul procesului inflamator inițial din cadrul glomerulonefritelor.

Deși semnificația celulelor dendritice prezente la nivelul glomerulului nu este încă bine studiată, se crede că ele ar juca un rol similar cu cel din alte țesuturi din organism unde sunt prezente, respectiv pe cel de celule prezentatoare ale antigenului limfocitelor T.

PARTICULARITĂȚI ALE ACȚIUNII SISTEMULUI COMPLEMENTAR ÎN NEFROPATIILE GLOMERULARE

Sistemul complementar este incriminat în producerea leziunilor din cursul nefropatiilor glomerulare. Astfel, sunt descrise depozite de complement la nivelul structurilor glomerulare, precum și modificări ale sistemului complementar sanguin. Se evidențiază activarea căii clasice și a căii alterne a complementului. Produșii de liză ai lui C_3 servesc ca și markeri ai procesului de activare a sistemului complementar. Un marker important îl reprezintă evidențierea complexului de atac al membranei în urină. În unele nefropatii glomerulare ca și GN mezangio-capilară, apar proteine patologice ce modifică activarea sistemului complementar: factorul C_3 nefritic și factorul C_4 nefritic.

Fixarea complexelor imune la nivelul rinichiului este în relație cu prezența de receptori pentru componentele acestora, un rol important revenind receptorilor pentru complement.

S-a întrevăzut o interrelație între receptorii pentru complement de la nivelul rinichiului și predispoziția pentru boală, expresia acestor receptori fiind mediată genetic, fapt care ar putea explica incidența crescută a GN la unii bolnavi.

Receptorii pentru C_{3b}/C_{4b} se află dispuși la nivelul proceselor podocitare ale celulelor epiteliale glomerulare. Receptorul pentru C_{3b}/C_{4b} este definit ca și CR 1 care se află la nivelul glomerulului (GCR 1). El se află sub control genetic, control care realizează cantitatea de receptori pe care o persoană o exprimă la nivelul glomerulului. GCR 1 vor interveni în modularea acțiunii complementare asupra glomerulului, el având uneori un rol protector al suprafeței celulare în fața activării complementare.

Scindarea lui C_{3b} se face în prezența unui cofactor care acționează in situ. Aceasta intervine în reglarea acestui proces, determinând cantitatea de C_{3b} produsă (Vedeler și colab.).

Recent, activitatea lui GCR 1 a fost studiată la bolnavi cu glomerulopatii diverse. Astfel, Iversen și colab. investigând 9 bolnavi cu GN IgA, 8 cu GN în cadrul SLE și 4 bolnavi cu nefroscleroza benignă care prezentau semne de activitate a bolii, au constatat o activitate a receptorului C_{3b}/C_{3d} de la nivelul glomerulului mai mare decât a receptorului C_{3b}/C_{3d} de la nivelul eritrocitelor, care este definit ca și ECR 1. Bolnavii cu GN IgA și nefroangioscleroză benignă au avut o activitate normală a lui ECR 1, în timp ce bolnavii cu GN lupică au avut o activitate scăzută sau absentă în 75% din cazuri. Studiile morfopatologice au evidențiat abolirea activității GCR 1 în zona în care se află dispuse depozitele de complement, comparativ cu alte zone unde activitatea este normală.

Tratamentul cu corticosteroizi și azathioprina al bolnavilor cu LED s-a însoțit de o activitate crescută a ECR 1. Bolnavii cu transplant renal au avut o activitate ECR 1 crescută (Iversen și colab.).

Schifferli și colab. atribuie ECR 1 o funcție de clearance al complexelor imune din circulație, diminuarea acestui receptor împiedicând acest proces. Perturbarea clearance-ului complexelor imune ar juca un rol important în patologia bolii (Schifferli și colab.).

Iversen și colab. au evidențiat la unii dintre bolnavii studiați un paralelism între activitatea GCR 1 și ECR 1, atribuind rinichiului un rol important în biosinteza și reglarea ECR 1, probabil printr-o acțiune la nivel medular (Iversen și colab.). Această ipoteză deschide o perspectivă care situează rinichiul într-un rol central în controlul mecanismelor imune de clearance al complexelor imune din organism, ipoteză de altfel foarte seducătoare, dar aceasta necesită a fi verificată; un paralelism se poate face cu rolul eritropoietinei în procesele de hematopoieză.

Una din observațiile care au atras atenția cercetătorilor în ultimul timp a fost cea a lui Sacks și colab. care au demonstrat sinteza lui C_3 în celulele

epiteliale și mezangiale în cursul procesului inflamator. Analizând expresia genei C_3 pe preparate obținute prin biopsie renală, Sacks și colab. au demonstrat sinteza de C_3 la nivelul țesutului renal normal, sinteza ce se amplifică în condiții patologice: GN membranoasa idiopatică, GN IgA, GN din lupoeritematoviscerită. S-a evidențiat sinteza și a altor factori complementari de către rinichi la șoarece, respectiv a lui C_3, C_2, C_4 și a factorului B în cursul nefritei murine de tip lupic (Passwell și colab.).

La om, celulele mezangiale pot sintetiza alături de C_3 și C_4. O activitate similară o au și celulele tubului proximal.

Sinteza renală epitelială tubulară se află sub un proces de up regulation prin intermediul unor citokine de tipul interferonului gama și interleukinei II. După Sacks și colab. rinichiul ar participa la propria leziune în cursul procesului inflamator: formarea complexelor imune cu activarea sistemului complementar și cu medierea leziunii tisulare prin intermediul complementului, eliberarea de citokine cu fenomene de up regulation al sintezei de C_3 (Sacks și colab.).

La producerea locală a proteinelor sistemului complementar participă și macrofagele care sunt prezente fie la nivelul glomerulului, fie, mult mai frecvent, la nivelul țesutului interstițial.

Sinteza proteinelor complementare de către celulele renale normale, ar avea un rol în rezistența naturală față de infecția tractului urinar, ca și un rol hemostazic similar cu alte funcții ale rinichiului (Noble).

În GN membranoasă experimentală, respectiv în nefrita Heymann pasivă, Kerjaschki și colab. au evidențiat localizarea timpurie a lui C_{5b-9} în depozite subepiteliale, ca și de-a lungul membranelor celulelor epiteliale, în zona în care este exprimat antigenul GP_{330}.

Complexul C_{5b-9} este supus unui proces de endocitoză de către celulă, ulterior este transportat endocelular în vezicule mari, după care este supus unui proces de exocitoză în spațiul urinar (Kerjaschki și colab.).

Complexul C_{5b-9} ar determina alterări în funcția sau expresia receptorilor care determină interacțiuni între celulă și matrice, ce au drept consecință detașarea celulelor epiteliale glomerulare cu proteinurie consecutivă. Aceasta s-ar mai putea datora unei creșteri a producției de mediatori de tipul proteinazelor și al substanțelor oxidante de către celulele glomerulare activate. De asemenea complexul de atac al membranei ar stimula celulele mezangiale care ar produce de asemenea substanțe oxidante.

Acțiunea complexului C_{5b-9} asupra matricei extracelulare ar juca un rol în dezvoltarea progresivă a îngroșării MB glomerulare și a procesului de scleroză care se observă în GN membranoasă cronică.

Creșterea grosimii MB glomerulare s-ar datora acumulării în principal de laminină. Ar crește totodată componentele constitutive ale matricei extracelulare, în special colagenul IV.

Studiile experimentale au evidențiat în nefrita Heymann pasivă că dacă se produce depleția complementului cu venin de cobră în timpul primelor 5 zile în care se dezvoltă proteinuria, această depleție abolește complet proteinuria.

Totuși activarea sistemului complementar nu este necesară în toate situațiile pentru a produce proteinuria. Salant a demonstrat în nefrita membranoasă experimentală că fragmentele F $(ab)_1$ și F $(ab)_2$ ale anticorpilor anti F·1A vor determina formarea de depozite subepiteliale, fără activarea sistemului complementar.

Complexul de atac al membranei pare să joace un rol important în patogenia leziunilor interstițiale din NG IgA. Alexopoulos și colab. constată o corelație între gradul de extindere al atrofiei tubulare și al fibrozei interstițiale cu intensitatea depozitelor de la nivelul celulelor tubulare a complexului de atac al membranei. Un rol important în producerea acestor leziuni ar reveni unui proces imun primar mediat celular (Alexopoulos și colab.).

În GN membranoasă, studiul sistemului complementar a relevat depozite granulare difuze de IgG și C_3 de-a lungul pereților capilarelor glomerulare, uneori însoțite de depozite de IgM, IgA, C_{1q} și C_4.

Imunofluorescența este utilă, în evidențierea precoce a depozitelor imune, înainte ca leziunile MB să fie evidente în microscopia optică.

Studiile lui Coupes și colab. au evidențiat în GN membranoasă primitivă o relație între valorile lui C_{3dg} și C_{5b-9} excretate în urină și activitatea bolii. Creșterea eliminării urinare a complexului de atac al membranei a fost evidențiată și la bolnavii cu GN membranoasă din cadrul SLE (Schultze și colab.).

Determinarea lui C_{5b-9} ar putea fi utilizată după Coupes și colab. în monitorizarea terapiei din această boală.

PROLIFERAREA CELULELOR MEZANGIALE ÎN RELAȚIE CU CITOKINELE ȘI CU ALȚI FACTORI

Prin intermediul citokinelor există o intercomunicare între celulele mezangiale, matricea mezangială și celulele inflamatorii.

Un număr important de glomerulonefrite prezintă leziuni proliferative, celulele mezangiale fiind principalii componenți ai acestora.

Proliferarea celulelor mezangiale se află în relație cu o multitudine de factori produși de către celulele care participă la procesul inflamator, inclusiv de celulele mezangiale propriu-zise.

Un rol important în producerea leziunilor proliferative mezangiale revine citokinelor și factorilor de creștere. Aceștia pot fi produși de către celulele endoteliale, epiteliale, celulele imune sanguine care infiltrează glomerulul, în principal de către neutrofile și macrofage, ca și de către celulele mezangiale propriu-zise (Striker, Toback și colab., Baud și colab., Goodyer și colab., Harris, Heidenreich și colab., Hammerman și Miller, Redeke și colab.).

Citokinele joacă un rol esențial în procesele proliferative mezangiale.

Analiza factorilor de creștere și a citokinelor care produc proliferarea celulelor mezangiale s-a făcut in vitro pe culturi de celule mezangiale.

Stimularea proliferării celulelor mezangiale în cultură se poate face, după Sterzel, prin intermediul:

– citokinelor: interleukina 1, interleukina 6, factorul de transformare al creșterii beta (în doze reduse). Acestea au și o activitate potențială autocrină.

– factorul de creștere epitelial, factorul de creștere insulin-like-1, factorul de creștere fibroblastic bazal, factorul de creștere derivat din plachete.

– altor factori solubili: endotelina, tromboxanul, PGE_2 alfa, care au și o activitate potențială autocrină

– ATP, insulina, trombina, arginina-vasopresina, secretina

– componente ale matricei de tipul colagenului IV, lamininei, fibronectinei, care au și un potențial de activitate autocrină (Sterzel și colab.).

Sub acțiunea acestor factori, celulele mezangiale suferă un proces de hiperplazie și de expansiune, proces care este asociat cu o creștere a acumulării matricei mezangiale (Matsumato și Hatano).

Procesul proliferativ mezangial din cursul GN se află sub influența a numeroși stimulatori:

– imunoglobuline
– componente ale sistemului complementar
– autacoizi (eicosanoizi, factori de activare plachetară, oxid nitric și ATP)
– hormoni peptidici: endotelina, vasopresina, insulina, arginina.

S-a suspectat intervenția lectinelor asupra celulelor mezangiale în mecanismele de producere a NGIgA. Astfel, unele lectine ca gliadina și jacelina s-ar lega de moleculele de IgA in vitro. Gliadina ar stimula producția de interleukina 6 și a factorului de necroză tumorală alfa. Unele lectine se pot fixa la nivelul celulelor mezangiale, interferându-le funcția. Alte lectine fixează IgA și formează agregate neimune care conțin IgA. Acestea se fixează de celulele mezangiale și induc NGIgA. Interacțiunea dintre lectine și aria mezangială poate determina o creștere a expresiei genelor care codifică sinteza de citokine și mediatori vasoactivi care acționează pe componenta celulară glomerulară, modificând în principal celulele mezangiale, determinând alterarea funcției glomerulare cu proliferarea celulelor mezangiale și creșterea consecutivă a matricei extracelulare și scleroză (Amore și colab.).

Procesul de proliferare a celulelor mezangiale poate să se datoreze factorilor de creștere produși de către celulele intrinseci glomerulare care

acționează în mod autocrin (celulele mezangiale), sau paracrin, ca și de celulele infiltrative inflamatorii la nivelul glomerulului (Floege Coleman și Ruef).

Factorul de creștere derivat din plachete ar interveni atât în proliferarea autocrină, cât și în cea paracrină (Gesualdo și colab., Johnson și colab.).

Factorul de creștere fibroblastic bazal este produs atât de către celulele mezangiale propriu-zise, cât și de către fibroblaști, celulele endoteliale, macrofage.

Factorul de transformare al creșterii beta este produs de către celulele mezangiale ca și de macrofage și de celulele endoteliale.

El are un efect bifazic: în doze mici este mitogen, iar în doze mari inhibă creșterea. Efectul principal este de inhibiție a creșterii, și se exercită pe celulele epiteliale, endoteliale, limfocitele T și B.

Macrofagele pot elibera substanțe cu rol mitogen pentru celulele mezangiale de tipul factorului de creștere derivat din plachete, factorul de transformare al creșterii beta, factorul de creștere insulinic 1 și factorul de creștere epitelial.

Studii experimentale au evidențiat că trei factori de creștere joacă un rol esențial în proliferarea mezangială din cursul GN experimentale produse prin anticorpi anti-celulă mezangială (anti Thy 1, 1), și anume: factorul de transformare al creșterii derivat din plachete, factorul de creștere fibroblastic, factorul de transformare al creșterii beta (Raname și colab., Yamanaka și Ishizaki).

Investigațiile lui Yoshioka și colab. privind ARN mesager responsabil de producerea interleukinelor și a factorului de necroză tumorală, ca și cele privind expresia lor la pacienții cu NGIgA, au evidențiat expresia interleukinei 6 și a factorului de necroză tumorală alfa de către celulele monocitare/macrofage, ca și de celulele rezidente glomerulare, în principal de către celulele mezangiale.

De asemenea s-a evidențiat la nivelul biopsiilor renale provenite de la bolnavii cu NGIgA, receptorul pentru factorul de creștere epitelial. Acesta este prezent predominant la nivelul mezangiului, unde ar juca un rol important în NGIgA.

– Interleukina 1 are un rol comitogen pentru celulele mezangiale. Acest rol este îndeplinit atât de interleukina 1 alfa, cât și de interleukina 1 beta. De asemenea are un rol important în stimularea sintezei de prostaglandine.

– Celulele mezangiale răspund prin proliferare la interleukina 6. Acest fapt a fost evidențiat de Ryffel și Mihatsch în studii experimentale la șoarece, șobolani și maimuțe. Factorul de stimulare a coloniilor de granulocite și macrofage, nu prezintă un efect mitogen asupra celulelor mezangiale.

Factorul de necroză tumorală alfa ar influența celule mezangiale, modulând contracția celulară și rearanjamentul citoscheletului. El are un grad

de citotoxicitate şi poate realiza, în funcţie de concentraţie, proliferarea celulelor mezangiale, sau din contră, poate inhiba creşterea lor.

Factorul de necroză tumorală alfa ar stimula producerea de către celulele mezangiale a unor citokine şi factori de creştere, eliberarea receptorilor celulari de suprafaţă de tipul ICAM–1, MHC I şi MHC II, precum şi a unor mediatori lipidici, ca şi a unor factori ce intervin în coagulare, de tipul factorului procoagulant tisular şi a inhibitorului activatorului plasminogenului.

Factorul de necroză tumorală alfa induce expresia citokinei chemoatractante RANTES în celulele mezangiale în cultură.

Studiile experimentale au evidenţiat producţia de factor de necroză tumorală în unele glomerulonefrite (GN) experimentale: nefrita nefrotoxică, GN acută proliferativă (boala serului la iepure), GN cronică (boala serului la şobolan).

La om, producţia de factori de necroză tumorală este evidenţiată în mezangiu în GN diabetică.

Administrarea exogenă a acestui factor la animalul de experienţă creşte gradul leziunilor în GN acută proliferativă.

După Emancipator şi Sedor, atât interleukina 1 cât şi factorul de necroză tumorală promovează interacţiuni proinflamatorii între neutrofile şi endoteliu. Celulele endoteliale şi neutrofilele pot deveni ţinta acţiunii citokinelor din cursul GN.

După D'Souza şi colab. H_2O_2 este mitogenic faţă de celulele mezangiale, accentuând efectele mitogene ale interleukinei 6 şi ale factorului de creştere derivat din plachete.

Proliferarea celulelor mezangiale în cultură este suprimată după Sterzel şi colab. prin intermediul citokinelor de tipul factorului de transformare al creşterii beta, al unor factori solubili: PGE_2, PGI_2, al factorului de relaxare endotelială (oxidul nitric), factori care au şi o activitate potenţial autocrină, factorul atrial natriuretic, unele componente ale matricei de tipul heparansulfatului, dermatansulfatului şi SPARC-osteonectin (Sterzel şi colab.).

Producţia de matrice extracelulară de către celulele mezangiale este stimulată de către componentele matricei extracelulare de tipul colagenului II şi IV, ca şi de laminina, care influenţează la rândul lor celulele mezangiale privind răspunsul la citokine în cursul fenomenelor de adeziune,; replicarea celulară şi producerea de matrice propriu-zisă este stimulată de interleukina 1 şi de factorul de transformare al creşterii beta.

După Floege şi colab. factorul de creştere derivat din plachete, ca şi factorul de creştere fibroblastic beta induc proliferarea mezangială selectivă şi acumularea matricei extracelulare in vivo.

Proliferarea celulelor mezangiale şi expansiunea matricei mezangiale ar fi importantă şi în patogeneza sclerozei glomerulare (Floege şi colab.). De

altfel este recunoscut că citokinele și factorii de creștere sunt incriminați ca și mediatori ai inflamației, precum și ca factori de progresiune în boli renale diverse.

Nemir și colab. au analizat 30 de biopsii provenite de la bolnavi cu NGIgA. Ei au evidențiat expresia receptorului pentru factorul de transformare al creșterii beta la nivelul celulelor mezangiale.

Expansiunea mezangială a fost crescută la acești bolnavi, în asociere cu expresia factorului de transformare al creșterii beta. Acești factori ar contribui la progresiunea bolii, respectiv la fibroza interstițială.

După Sedor și colab. s-a emis ipoteza că factorul de necroză tumorală și interleukina 1 stimulează celulele mezangiale în glomerulul inflamat, fapt care exprimă un fenotip alterat, ceea ce ar contribui la progresiunea leziunii glomerulare. Ar exista o adaptare epigenetică la schimbările din mediul local înconjurător. Acest concept, menționat de altfel mai sus, este acela de phenotype-switch al celulei mezangiale.

Recent, Johnson a demonstrat o schimbare a fenotipului atunci când celula mezangială exprimă alfa SM actină.

În patogeneza GN proliferative mezangiale s-ar incrimina participarea unui factor de creștere pentru celulele mezangiale.

Celulele mezangiale în cultură exprimă atât citokine cât și factori de creștere. Ele exprimă totodată și receptori specifici pentru acești factori. Aceasta ar permite și o reglare autocrină a proliferării, turnoverului și producerii matricei.

Stimuli imunologici și neimunologici continui pot induce un proces de up-regulation a acestei funcții autocrine, care poate duce la o proliferare anormală și o hiperproducție a matricei, cu evoluție spre scleroză. Fenomenul de up-regulation este exprimat în inflamație.

Unul din principalii factori incriminați este reprezentat de factorul de creștere produs de plachete. Acesta s-a dovedit a fi un mitogen puternic pentru celulele mezangiale în cultură. El ar acționa la nivelul receptorului celular specific. Prin transducerea intercelulară a semnalului, acesta induce o reorganizare a actinei celulare, chemotaxis și proliferare. Ar fi de altfel și unul din factorii implicați în progresiunea leziunii renale spre scleroză.

Celulele mezangiale pot să secrete mediatori solubili prin intermediul cărora determină atracția unor celule care participă la inflamație: IL6, IL8, MCP, GM–CSF.

Celulele mezangiale sintetizează factorul C_3 al complementului ce joacă un rol esențial în procesul inflamator. Interleukina 1b determină creșterea producției factorului C_3.

Studiile experimentale efectuate de Savill și colab. au demonstrat că celulele mezangiale ca și macrofagele ingeră neutrofilele supuse procesului de apoptoză. După Savill, apoptoza sau moartea programată a neutrofilelor

senescente, conduce la preluarea lor de către fagocite. Acesta este un mecanism general prin care neutrofilele pot fi îndepărtate din locurile inflamate in vivo, determinând mai mult rezoluția decât persistența inflamației.

În cursul GN experimentale mezangiale prin anticorpi anti Thy 1, Okuda și colab. au evidențiat că anticorpii anti-factor de transformare al creșterii beta acționează blocând răspunsul proliferativ al acestor celule.

De asemenea, antagonistul WEB 2170 al receptorului factorului de activare plachetară ameliorează atât hemodinamica cât și morfologia GN proliferative mezangiale experimentale (Stahl și colab.).

Johnson și colab. realizează în GN mezangială experimentală la șobolan inhibiția atât a proliferării cât și a expansiunii matricei mezangiale prin anticorpi față de factorul de creștere derivat din plachete.

Aceste experimente deschid perspectiva unei terapii moderne care se adresează mediatorilor de tipul citokinelor, sau receptorilor prin care aceștia acționează.

După Sterzel, se pot utiliza în scop terapeutic: inhibitori specifici de tipul antagoniștilor receptorului interleukinei 1, decorinul și biglicanii, pentru a antagoniza efectele factorului de transformare al creșterii; și a SPARC osteonectinei pentru a inhiba acțiunea factorului de creștere derivat din plachete.

Substituirea citokinelor se poate face cu alți mediatori cu activitate antiinflamatorie.

Prin intermediul interacțiunilor citokină-receptor se determină o inhibare sau o promovare a unei transducții a semnalului intracelular și a transcripției genei prin interacțiunea citokină-receptor (Sterzel).

Întrucât se consideră că factorul de transformare al creșterii beta ar acționa prin creșterea acumulării matricei extracelulare, având efecte nefavorabile asupra glomerulului, în GN ca și în nefropatia diabetică se consideră de către Border și colab. că antagoniștii acestui factor pot fi utilizați în tratamentul glomerulonefritei și prevenirea glomerulosclerozei.

Antiserul față de factorul de necroză tumorală alfa reduce leziunea glomerulară mediată imun (Hruby și colab.)

INTERRELAȚII ALE CELULELOR MEZANGIALE, ÎN DEPENDENȚĂ DE FACTORI IMUNI

Este cunoscut că la nivelul mezangiului se află dispusă o populație celulară care posedă proprietăți imune particulare. 85% din această populație este reprezentată de un tip de celulă mezangială cu o structură cu totul

particulară. Ea se aseamănă cu celulele musculare, posedând elemente contractile, prin intermediul cărora, modificând lumenul capilar, influențează filtrarea capilarelor glomerulare. Totodată, posedă asemănări cu fibroblaștii, proprietățile sale secretoare fiind determinante în producerea matricei.

Pentru a putea răspunde la stimuli diverși, ca de exemplu la factori vasomotori, ele posedă receptori specifici. Astfel sunt descriși receptori pentru angiotensina II.

Ele se pot contracta, de asemenea, ca răspuns la mediatori ai inflamației, contracția producându-se consecutiv unor receptori de mică afinitate.

În afară de producerea matricei mezangiale, celulele mezangiale participă și la producerea componentelor membranei bazale. Astfel, ele sunt incriminate în producerea fibronectinei și a colagenului (Mené și colab.).

După Emancipator și Sedor, celulele mezangiale ar avea și alte funcții:
– reprezintă un suport al glomerulului;
– răspund la reactanți imuni de tipul citokinelor și al altor peptide

Celulele mezangiale exprimă receptori pentru citokine.
– răspund la acțiunea complexelor imune circulante, acțiune dependentă de receptori ai regiunii Fc a anticorpilor.
– secretă mediatori ai inflamației, inclusiv radicali reactivi de oxigen, de tipul superoxidului, produși de lipooxigenază și ciclooxigenază;
– secretă proteaze neutre, capabile să digere membrana bazală (Emancipator și Sedor).

La rândul lor, celulele mezangiale pot să secrete citokine prin intermediul cărora pot influența și alte celule de vecinătate. Alături de citokine sunt elaborați și factori de creștere.

Ele pot suferi un proces de comutare (switch) de la un fenotip contractil la unul secretor sau activ.

Celulele mezangiale posedă și o capacitate importantă de fagocitoză, consecutiv căreia sunt eliberați metaboliți activi. Astfel, celulele mezangiale care fagocitează IgA opsonizată cu aur, stimulează factorul de activare plachetară concomitent cu creșterea sintezei de PGE_2 (Schlondorff și colab.).

Procesul de filtrare aduce în regiunea mezangială o serie de substanțe. Unele dintre ele sunt indepărtate prin intermediul fluxului lichidian prezent la acest nivel.

După Veis, la nivelul mezangiului s-ar desfășura două tipuri de flux. Astfel, particulele care vor trece din lumenul vascular prin lamina fenestrată în spațiul mezangial, vor trece prin canalele existente între celulele mezangiale și trec în filtratul glomerular după ce au străbătut membrana bazală. Al doilea flux este direct, din capilarele aferente în cele eferente, prin mezangiu. Unele din aceste particule vor fi îndepărtate prin intermediul celulelor

mezangiale. Acestea posedă o capacitate importantă de endocitoză, prin intermediul căreia pot îndepărta aceste substanțe.

Cea mai importantă acțiune este aceea de îndepărtare a complexelor imune care au ajuns la acest nivel. Ea se realizează prin faptul că celulele mezangiale au o capacitate de clearance și degradare a complexelor imune. Această funcție este deosebit de importantă întrucât poate avea un rol deosebit de important în limitarea proceselor patologice imune care se desfășoară la acest nivel.

Celulele mezangiale sunt supuse acțiunii unor factori care determină proliferarea acestora. Aceasta se realizează ca răspuns la numeroși factori, între care și la produși ai plachetelor și macrofagelor.

O altă populație celulară prezentă în mezangiu derivă din măduvă. Ea posedă de asemenea receptori Fc, prezintă antigenul comun leucocitar, uneori și antigenul Ia. Această celulă reprezintă 15% din celulele prezente în mezangiu, are capacități fagocitare și caracteristicile monocitelor, macrofagelor (Veis).

Aceste celule vor juca de asemenea un rol important în procesele imune care se desfășoară la nivelul mezangiului.

Întrucât mezangiul este traversat în permanență de o serie de substanțe ce reprezintă rezidii ale proceselor de filtrare, precum și de numeroase macromolecule, uneori chiar de germeni patogeni, celulele prezente în mezangiu vor interveni frecvent în procesele imune care rezultă din interrelația dintre substanțele antigenice prezente în mezangiu și mecanismele imune care intervin în vederea înlăturării lor.

ROLUL CITOKINELOR ȘI AL FACTORILOR DE CREȘTERE ÎN PRODUCEREA MATRICEI MEZANGIALE

Matricea mezangială joacă un rol structural deosebit de important. Ea se află într-un proces permanent de remodelare. Producerea matricei mezangiale, ca și degradarea ei, se află într-un echilibru dependent de numeroși factori, între care un rol important revine citokinelor.

Funcționalitatea glomerulului este dependentă de fluxul macromolecular la nivelul mezangiului. În condițiile în care se perturbă matricea mezangială, se perturbă și acest flux.

Celulele mezangiale sunt principalele responsabile de producerea matricei extracelulare, fenomen care are loc în zona de contact dintre aceste celule.

Principalele citokine incriminate în producerea matricei mezangiale sunt reprezentate de către:

- factorul de transformare al creșterii beta,
- factorul de creștere derivat din plachete,
- interleukina 1 beta.

În același timp unele citokine și factorii lor de creștere participă la degradarea matricei mezangiale.

Producția de proteoglicani, unii din principalii componenți ai matricei mezangiale, se află sub controlul factorilor de creștere, de tipul factorului de transformare al creșterii beta și al factorului de creștere derivat din plachete, ca și sub controlul citokinelor de tipul factorului de necroză tumorală și interleukina 1 beta.

Factorul de transformare al creșterii beta determină producerea de către celulele mezangiale și a altor componente ale matricei mezangiale de tipul biglicanilor, decorinului, fibronectinei.

Locusurile anionice ale filtrului glomerular sunt realizate în principal de proteoglicanul heparan sulfat la nivelul mezangiului. Proteoglicanii de tip condroitin sulfat ai membranei bazale de la nivelul mezanginului coexistă cu proteoglicanul heparan sulfat. După Davis și colab. natura polianionică a acestor molecule contribuie la încărcătura negativă a mezangiului ce va atrage și va fixa unele tipuri de complexe imune în mezangiu (Davis și colab.).

În condiții patologice, ca de exemplu în GN proliferative mezangiale produse prin ser anti-timocitar se observă o sinteză crescută a acestuia (Border și colab.). De asemenea în GN prin anticorpi anti-MB glomerulară la iepure, Coimbra și colab. semnalează de asemenea o producție crescută a factorului de transformare al creșterii beta (Coimbra și colab.).

Factorul de transformare al creșterii beta este incriminat și în stimularea producerii de integrine de către celulele mezangiale. El induce de asemenea o creștere a sintezei de colagen de către celulele mezangiale (Coimbra și colab.).

În GN experimentale s-a observat o producție modificată, atât cantitativ, cât și calitativ a matricei mezangiale. Astfel s-a observat producerea în cantitate crescută a fibronectinei, decorinului și a biglicanilor, ca și sinteza de elemente anormale ale matricei mezangiale de tipul tenascinei și fibronectinei ED–A (Veis).

Activitatea citokinelor este supusă unui mecanism reglator reprezentat prin însăși elementele constructive ale matricei.

Astfel Coimbra și colab. au demonstrat că decorinul produs în cantitate crescută, acționează printr-un mecanism de feedback negativ neutralizând acțiunea factorului de transformare al creșterii.

Degradarea matricei mezangiale se află sub controlul factorilor de creștere și al citokinelor. Exemplul cel mai evident îl reprezintă degradarea proteoglicanilor de la nivelul matricei care se află sub controlul factorului de creștere derivat din plachete, ca și a unor interleukine de tipul factorului de necroză tumorală și interleukina 1.

Aceștia controlează în același timp și inhibitorii tisulari ai metaloproteinazelor, produși de asemenea de către celulele mezangiale. Macrofagele care infiltrează mezangiul în cursul proceselor inflamatorii din glomerulonefrite sunt, de asemenea, incriminate în producerea de interleukine și factori de creștere, care intervin în reglarea producerii de proteinaze și inhibitori ai acestora (Baricos și Shah.).

Studii experimentale recente au evidențiat o inhibiție a expansiunii matricei în nefrita anti Thy 1, 1 (Floege). Astfel acest fenomen a fost observat în glomerulonefrita la șobolan prin anticorpi față de factorul de transformare al creșterii (Johnson și colab.). Border și colab. au demonstrat supresia glomerulonefritei experimentale prin antiser față de factorul de transformare al creșterii beta 1.

Adeziunea dintre matrice și celule joacă, după Casio și Orosz un rol important în patologia renală. Ea intervine prin:
– menținerea structurii și funcției tisulare normale,
– modularea metabolismului matricei,
– modularea altor funcții tisulare și celulare (Cosio și Orosz).

Astfel celulele mezangiale joacă un rol în hemodinamica renală.

Ele se fixează pe suprafața MB care nu participă la procesele de filtrare, permițând a menține forma normală a capilarelor glomerulare. Contracția celulelor mezangiale se poate transmite MB glomerulare, reglând hemodinamică renală. Integrinele și fibrele de actină sunt localizate în pedicelele celulelor epiteliale glomerulare, ce se fixează la nivelul MB glomerulare. După Cosio și Orosz, adeziunea dintre MB glomerulară și celulele epiteliale glomerulare ar juca un rol important în menținerea caracteristicilor de filtrare selectivă ale MB pentru proteine. În același timp, componentele matricei mezangiale reglează metabolismul fibronectinei produsă de către celulele mezangiale. În condiții patologice acest metabolism este alterat, cu formarea unei matrice cu organizare funcțională deficitară. Contactul dintre celulele mezangiale și matrice determină o serie de acțiuni: fragmentele rezultate din metabolismul proteolitic al matricei mezangiale au proprietăți chemotactice pentru monocite și fibroblaști, fibronectina accentuează proliferarea celulelor mezangiale, iar Colagenul IV o inhibă (Cosio și Orosz).

ACTUALITĂȚI ÎN PATOGENIA NEFROPATIEI CU DEPOZITE DE IgA (NGIgA)

Nefropatia cu IgA reprezintă una din cele mai frecvente nefropatii glomerulare. Totodată, ea prezintă frecvent o evoluție spre insuficiența renală cronică terminală. După D'Amico, 20–30% din bolnavi evoluează spre acest stadiu.

În același timp există o serie de observații care sugerează că NGIgA este o boală cu manifestări sistemice. În acest sens ar pleda evidențierea depozitelor de IgA uneori asociate cu cele de IgG la nivelul tegumentelor, iar cel de-al doilea reapariția bolii pe rinichiul transplantat.

Principala caracteristică a acestei boli o reprezintă afectarea renală, realizându-se o glomerulonefrită în care se observă o depunere preponderentă a IgA în aria mezangială a glomerulilor.

Afectarea renală este dominată de către hematuria microscopică. Proteinuria e variabilă, putând lua aspectul unui sindrom nefrotic.

HTA apare la un număr important de bolnavi.

Simptomele unei boli sistemice sunt absente, cu precădere cele de LED și de boala hepatică (Clarkson și colab.).

În NGIgA a fost incriminat atât factorul familial, cât și asocierea cu antigenele de histocompatibilitate, aceste elemente fiind menționate la începutul lucrării.

Williams menționează că NGIgA semnalate în cazuri familiale nu implică și asocierea cu unele antigene de histocompatibilate (Williams).

În producerea NGIgA sunt incriminate antigene virus-like ca și proteine din soia. În exacerbarea bolii intervin factori variabili care nu sunt specifici NGIgA.

Sistemul complementar sanguin prezintă modificări inconstante în NGIgA.

Studiile lui Wyatt asupra a 13 componente ale sistemului complementar la 28 de bolnavi cu NGIgA, au arătat că numai la 4 pacienți s-a observat o depresie izolată a componentelor individuale ale sistemului complementar, în timp ce la ceilalți acestea au prezentat valori normale (Wyatt și colab.).

S-a observat uneori că concentrațiile unor proteine reglatoare ale sistemului complementar ca C_1 inhibitor, H și I, au fost scăzute la bolnavii care prezentau o evoluție progresivă a NGIgA cu alterarea funcției renale.

Cu toate acestea, s-a observat la un număr mare din bolnavii studiați o activare a sistemului complementar prin intermediul fragmentelor de liză ale lui C_3. Evidențierea se face prin anticorpi monoclonali care decelează complexul antigenic iC_3b–C_3d.

Astfel, Tanaka şi colab. au constatat această activare prin evidenţierea fragmentului C_3d la 70% din bolnavii cu NGIgA la copii.

Alături de activarea căii clasice s-a observat la unii bolnavi cu NGIgA şi activarea căii alterne.

Unii autori ca şi Brenchley au găsit la 17% din 29 de bolnavi cu NGIgA concentraţii serice crescute ale complexului de atac al membranei, respectiv C_5b_{-9}.

Componenţa depozitelor imune este reprezentată de către IgA, dar mai pot fi observate şi depozite de complement şi IgG.

Cel mai frecvent se observă depozite de C_3. Ele se evidenţiază într-o proporţie de până la 75–100% din biopsii.

Într-o proporţie mult mai redusă se observă alte fracţii ale sistemului complementar: C_1q, C_4, C_5, C_9, sau ale întregului complex de atac al membranei.

Activarea sistemului complementar prin intermediul complexelor imune care conţin IgA este controversată, unii autori ca Rifai negând acest lucru. Rifai consideră că naura antigenului în depozitele glomerulare imune de IgA reprezintă elementul major al activării sistemului complementar (Rifai).

În GNIgA mecanismele imunităţii celulare sunt implicate complex în imunopatogeneza leziunilor renale.

Astfel, s-au observat o multitudine de modificări ale imunităţii celulare:

– producţia crescută de IgA la nivelul ţesutului limfoid a fost demonstrată atât la nivelul amigdalelor, cât şi la nivelul măduvei hematogene;

– s-a observat o distribuţie crescută a subclaselor de limfocite producătoare de IgA la nivelul măduvei hematogene în favoarea IgA_1;

– limfocitele B care poartă IgA sunt crescute în perioada de activitate a bolii;

– limfocitele B purtătoare de IgA prezintă o hiperactivitate la mitogeni; sub influenţa acestora se produce o creştere a sintezei de IgA. De asemenea limfocitele purtătoare de CD_5 sunt crescute. Acestea sunt de regulă asociate cu boli autoimune;

– s-au observat modificări ale limfocitelor T. Ele constau în reducerea numărului de limfocite T supresoare cu creşterea raportului limfocite helper/limfocite ajutătoare. Aceste modificări sunt prezente în perioada de activitate a bolii.

Limfocitele helper specifice, respectiv cele cu receptori alfa, definite T alfa, sunt crescute numeric la bolnavii cu NGIgA.

În general nu se modifică numărul limfocitelor T alfa 8, respectiv cele supresoare/citotoxice. Unii autori au semnalat la bolnavii cu NGIgA o diminuare a numărului acestora (Egido şi colab.).

Se activează limfocitele T din circulaţie care exprimă receptori pentru interleukina II.

La unii bolnavi s-a observat că limfocitele T helper cu antigene DR se asociază cu reducerea numărului limfocitelor T supresoare.

Eliberarea de receptor solubil pentru interleukina II în circulaţie este crescută. Creşterea producţiei de interleukina II este observată atât în condiţii de linişte a bolii, sub stimulare, cât şi în perioada de activitate a bolii.

Limfocitele T activate eliberează şi alte citokine în NGIgA: IL4, IL6, interferonul gama.

Interleukina 6 are capacitatea de a creşte proliferarea mezangială. De asemenea, IL6 creşte producţia de IgA de către limfocitele B. De altfel, IL6 a fost evidenţiată în cantităţi crescute în urina bolnavilor cu NGIgA. Creşterea interferonului gama ar fi în relaţie cu expresia creşterii antigenelor HLA (Williams).

Expresia genei interleukinei II este mai mare la nivelul limfocitelor T CD4+, comparativ cu CD8+. De asemenea expresia receptorilor pentru IL II şi IL4 este crescută.

La nivelul limfocitelor B se produce un fenomen de switch, în care se produc limfocite B producătoare de IgA de tipul celor producătoare de lanţuri lambda. Acest fenomen este guvernat de factorul de transformare al creşterii.

De asemenea ar exista o insuficienţă a switchingului normal al IgA spre IgG. Ea ar avea la bază o perturbare genetică cu o distribuţie anormală a polimorfismelor din regiunea genomului care controlează switchingul lanţului greu (Harper şi Feehally).

Limfocitele T 4 alfa cresc switchul celulelor care poartă IgM către celulele care poartă IgA. Limfocitele T 4 alfa pot fi responsabile pentru activitatea policlonală în producerea nefropatiei IgA (Sakai şi colab.).

În ser există IgA1 în proporţie de 90%, în timp ce în mucoase IgA1 şi IgA2 sunt în proporţie egală.

În mod uzual în circulaţie se află Ig fie sub formă monomerică, fie sub formă polimerică, într-o proporţie egală pentru IgA1 şi IgA2.

În NGIgA predomină în principal IgA1 sub forma polimerică. La bolnavii cu NGIgA depozitele de imunoglobuline din mezangiu sunt constituite predominent din IgA1.

De asemenea în ser de află IgA1 şi formă de λIgA şi KIgA în raport de 2: 1. La nivelul mezangiului predomină depozite de λIgA. În alte nefropatii ca în LED şi GN membranoasă primitivă nu se observă acest fenomen (Lai).

După Monteiro, predominanţa depozitelor de λIgA ar pleda pentru faptul că depunerea C_1 în NGIgA este selectivă, fiind cauzată de diferenţe în natura multimetrică, mărimea C_1 sau a încărcăturii anionice a unor subclase diferite de IgA (Monteiro).

După Lai ar exista o alterare a raportului dintre lanţurile uşoare, consecutivă unui antigen încă neidentificat, care determină o producţie crescută

de IgA. S-a constatat că limfocitele bolnavilor cu NGIgA produc în cultură o cantitate crescută de IgA, fără a se observa o modificare a raportului K/λ, a IgM sau IgG. Lai consideră că prezenţa crescută a IgA ar putea avea un rol în legarea selectivă a C_1 la nivelul mezangiului.

În patogenia GNIgA are un rol important IgA polimeric, care se află în cantitate crescută în circulaţie, ca şi la nivelul mezangiului. Harper şi Feehally au emis ipoteza că o acţiune a antigenului la nivelul mucoasei, în condiţiile unui sistem imun hiperactiv, determină un răspuns exagerat al IgA polimerice.

Cantităţi anormale de IgA polimeric ajung în circulaţie şi sunt depozitate în mezangiul glomerular, fie ca şi complexe imune circulante care sunt atrase la acest nivel, fie ca un răspuns la antigenul glomerular. IgA polimeric se poate afla ca atare în circulaţie în cantitate crescută, proporţional cu creşterea IgA total.

În cursul perioadelor de activitate ale bolii, IgA total creşte mult mai mult pe seama IgA polimeric. S-a observat că imunizarea cu antitoxină tetanică se însoţeşte de o producere excesivă de IgA polimeric. Hematuria macroscopică se însoţeşte frecvent de o creştere a IgA polimeric.

Factorul reumatoid de tip IgA are o activitate crescută la 50% din bolnavii cu NGIgA. Aceasta se datorează în principal lanţurilor polimerice de IgA.

S-a demonstrat că în structura CIC se află antigene din alimente de tipul albuminei din ou şi a celei din serul bovin. În ser se semnalează complexe imune formate din fibronectină şi IgA polimeric.

De altfel s-a observat creşterea CI care conţin IgA după masă. CI sunt variabile ca şi compoziţie: unele conţin IgA cu activitate de anticorp faţă de antigenii exogeni, altele agregate de tip IgA–IgG sau IgA polimeric. Clearancele CI, în special al IgA polimeric sau agregat este defectiv al nivelul sistemului monocito-macrofagic (Williams).

Idiotipii au fost identificaţi în depozitele mezangiale ale majorităţii NGIgA studiate. Aceştia nu sunt specifici pentru această boală, fiind identificaţi şi în alte forme de glomerulonefrite (Warmold şi colab.).

IgA încărcat negativ se află într-o proporţie crescută în NGIgA. După Williams bolnavii cu o concentraţie crescută de IgA polimeric şi cu o proporţie mare de IgA anionică vor avea o tendinţă crescută pentru a se depune IgA la nivel glomerular (Williams).

CI se pot forma în NGIgA şi in situ, anticorpii circulanţi reacţionând cu antigene plantate la nivelul glomerulului.

Totuşi nu se cunoaşte motivul pentru care IgA aderă la mezangiu în această boală. O proteină transmembranară care joacă rol de receptor pentru IgA nu a fost demonstrată în mezangiul glomerular, ea fiind prezentă însă în polimorfonucleare, monocite şi macrofage. În NGIgA s-a observat o infiltrare a glomerulilor cu polimorfonucleare şi cu monocite (Kincaid-Smith şi colab.).

Unele din cazurile cu NGIgA prezintă proliferare intracapilară cu formare de semilune. La formarea acestora participă importante mecanisme ale imunității celulare. Astfel au fost identificate monocite/macrofage și limfocite T la acest nivel.

Au fost identificate inconstant celule NK.

Studiile lui Li și colab. au demonstrat că unele dintre celulele mononucleare poartă receptori pentru interleukina 2, fapt care sugerează că celulele mononucleare activate pot contribui la patogeneza imună a semilunelor.

Întrucât formarea semilunelor are loc în spațiul urinar, Hotta și colab. au presupus că celulele care participă la formarea lor pot fi eliminate în urină. Hotta și colab. au evidențiat în urină celule purtătoare de antigene CD_{14}+ și CD_{56}+. Celulele purtătoare de astfel de antigene sunt și celulele NK. Fiind un panantigen CD_{56} este reprezentat preponderent la nivelul macrofagelor, dar poate fi observat și la nivelul limfocitelor T activate. Hotta și colab. constată o relație între numărul celulelor cu antigene CD_{14}+ și CD_{56}+ și extinderea formării de semilune în țesutul renal. Ele ar putea fi utilizate în evaluarea prognosticului și urmărirea terapiei NGIgA, întrucât repetarea biopsiei renale în cursul evoluției bolii nu este facilă.

La nivelul biopsiilor bolnavilor cu NGIgA s-au evidențiat macrofage (Leu M_3/CD_{14}) și celule NK (Leu 19/CD_{56}) în semilunele active, în timp ce limfocitele T (Leu/CD_3) au fost mai rar observate.

Celulele cu receptori CD_{56}+ se observă numai la nivelul semilunelor, în timp ce celulele purtătoare de receptor CD_{14} se observă atât la nivelul semilunelor, cât și la nivelul ghemului capilar.

Ar exista și o perturbare a catabolismului IgA la nivelul sistemului macrofagic/monocitar. Totodată, Roceatello și colab. a evidențiat la bolnavii cu NGIgA o blocare a receptorilor Fc.

Cu toate observațiile recente prezentate mai sus, patogenia NGIgA nu este încă elucidată.

După Williams în patogenia bolii se pot incrimina mai multe mecanisme:
- depunerea CIC sau formarea lor in situ;
- o afectare a funcției de bariera imună a mucoaselor;
- ruperea toleranței orale;
- autoiminitatea;
- o producție excesivă, dar normală de IgA;
- dereglarea producției de IgA;
- o afectare a IgG, respectiv anomalii ale producției și reglării sale.

NGIgA ar putea fi un sindrom în cadrul mai multor boli (Williams).

Deși nu s-a demonstrat depunerea la nivelul rinichiului de autoanticorpi la pacienții cu NGIgA, au fost puși în evidență în circulație autoanticorpi față de proteina nucleară, față de colagen, anticorpi antiidiotipi

şi anti F(ab')$_2$. Aceasta s-ar datora unei expansiuni policlonale a limfocitelor B (Sakai).

Boala are o evoluţie spre insuficienţa renală la 10–20% din cazuri.

NGIgA nu are un tratament etiologic întrucât nu i se cunoaşte cauza. Se aplică în unele cazuri tratamente care încearcă să vizeze diverse mecanisme patogenice, în unele situaţii se aplică plasmafereza, dar cu rezultate moderate.

Boala apare frecvent pe rinichi transplantat la un bolnav care a avut NGIgA.

Observaţii asupra soartei unor rinichi de cadavru proveniţi de la bolnavi care au prezentat NGIgA, transplantaţi la bolnavi fără NGIgA, au relevat dispariţia depozitelor imune de IgA (Sanfilippo şi colab.).

Totuşi, IgA eluat cu substanţe acide de la nivelul bolnavilor cu IgA nu se fixează pe rinichiul normal.

Progresele recente în studiul NGIgA, care se succed foarte rapid, par să elucideze multe din modificările imune semnalate în această boală.

Ele vor duce probabil în viitor în NGIgA atât la soluţii profilactice, cât şi la soluţii terapeutice.

MODIFICĂRI IMUNE ÎN GLOMERULONEFRITELE RAPID PROGRESIVE

Proliferarea extracapilară se poate datora mai multor afecţiuni mediate prin mecanisme imune. Frecvent acestea iau aspectul unei GN rapid progresive. În producerea ei intervin atât mecanismele imunităţii celulare, cât şi cele ale imunităţii umorale.

Proliferarea extracapilară se poate produce prin intermediul anticorpilor anti-MB, cum se observă în sindromul Goodpasture sau în GN rapid progresivă primitivă mediată prin anticorpi anti-MB.

Ea se poate produce şi prin intermediul complexelor imune, aşa cum se observă în GN rapid progresivă idiopatică sau în unele GN rapid progresive secundare, ca şi cele din vasculitele sistemice primare, unele boli sistemice ca SLE, purpura Henoch-Schönlein, crioglobulinemia mixtă esenţială, în unele GN post-infecţioase ca GN poststreptococică, GN din endocardita infecţioasă, GN din nefrita de shunt.

Proliferarea extracapilară mai poate însoţi GN rapid progresive din bolile neoplazice şi secundare unor medicamente. Unele GN primitive ca: GN

membranoasă, GN mezangiocapilară și GN mezangială se pot însoți de proliferare extracapilară. Studiile au relevat unele particularități în funcție de tipul de GN rapid progresivă.

Astfel, s-a demonstrat că anticorpii anti-MB glomerulară se localizează pe domeniul C-terminal globular de tip necolagenic-1 al lanțului alfa-3 (IV) al colagenului de tip IV. Epitopii pentru anticorpii anti-MB glomerulară sunt în general ascunși în domeniul necolagenic 1. Se pare că dezvelirea acestor epitopi are un rol important în patogeneza bolii de tip autoimun (Weber).

În GN rapid progresive din vasculitele autoimune se produc autoanticorpi față de antigene ale citoplasmei neutrofilului, definiți ca și ANCA. Autoanticorpii care reacționează cu antigenul proteinazic de tip 3 poartă numele de C-ANCA, și sunt evidențiați în granulomatoza Wegener. Cei care reacționează cu mileoperoxidază sunt definiți ca P-ANCA; o mică parte din autoanticorpi reacționează cu antigene de tipul elastazei, lactoferinei, ca și un alt component granulocitar (Falk și colab.).

GN rapid progresivă idiopatică cu depozite imune sărace, în care mecanismele imune sunt mai puțin evidente, se caracterizează de asemenea prin prezența autoanticorpilor de tip ANCA.

Complexele imune formate din DNA-anti DNA se leagă în LED de locusurile anionice prin intermediul unor histone puternic cationice. Aceasta favorizează de altfel formarea locală de complexe imune (Schmiedecke și colab.).

După Holzman și Wiggins formarea semilunelor glomerulare se desfășoară în cinci etape:

I. etapă în care consecutiv leziunii glomerulare se produce o infiltrare a glomerulului cu neutrofile, macrofage/monocite și limfocite T.

Acestea într-o strânsă colaborare lezează celulele glomerulare, realizează găuri în peretele capilar glomerular, fapt care permite scurgerea plasmei și celulelor în spațiul Bowman.

II. etapă în care se formează cilindrii proteinacei în spațiul Bowman și în tubul proximal. Aceștia sunt compuși din fibrină, fibronectină, plasminogen, trombospondina, precum și alte substanțe proteice.

În producerea cilindrilor care conțin fibrina intervin factori procoagulanți produși de către celulele endoteliale, ca și de monocite/macrofage. În același timp fibrinoliza este inhibată.

În compoziția semilunelor intră inițial macrofagele, ulterior celulele epiteliale care proliferează, iar în final are loc o infiltrație cu fibroblaști, uneori ele pot să apară simultan.

În cele trei stadii se produce o infiltrare periglomerulară cu limfocite T; barierele dintre acestea și semilune se pot rupe.

Mobilizarea acestor celule limfocitare înăuntrul și în afara glomerulului caracterizează stadiul IV, fapt care îi conferă aspect de granulom. În spațiul

Bowman sunt prezente, ca şi în zona periglomerulară, celulele producătoare de matrice.

Fibroblaştii migrează prin zonele de disrupţie a capsulei lui Bowman. Se realizează stadiul IV.

În stadiul V se produce o fibrozare de tip cicatriceal cu distrugerea artitecturii normale (Holzman şi Wiggins).

Acest proces ar corespunde după Rondeau cu vindecarea rănilor prin ţesut fibros. Ţesutul care va înlocui semilunele s-ar forma prin acumularea de colagen ca şi a altor componente ale matricei (Rossi şi colab.) Acestea ar fi sintetizate de către celulele epiteliale şi fibroblaştii care au infiltrat semilunele (Rondeau).

În procesul inflamator un rol revine localizării extracapilare a lui C_3 şi C_4. Macrofagele care participă la această proliferare, ca şi celulele epiteliale, pot să realizeze sinteza factorilor sistemului complementar.

În formarea semilunelor sunt incriminate celulele epiteliale parietale, cele viscerale nefiind interesate.

Celulele epiteliale glomerulare reprezintă primul component care participă la producerea semilunelor.

Cel de-al doilea component este reprezentat de către celulele monocitare.

Pătrunderea celulelor monocitare are loc din zona periglomerulară prin capsula lui Bowman.

Proliferarea celulară din GN rapid progresivă s-ar datora procesului inflamator ca şi formării de fibrină.

În formarea semilunelor ar interveni mediatori solubili: unii care provin din circulaţia sanguină, iar alţii din celulele care infiltrează zona, sau din celule glomerulare intrinseci.

Principalii mediatori solubili incriminaţi în formarea semilunelor care provin din circulaţia sanguină sunt reprezentaţi de anticorpi faţă de componentele glomerulare, de componente complementare C_{3a}, C_{5a}, C_{5b-9}, şi de factori ai căii intrinseci a coagulării.

Celulele intrinseci glomerulare, ca şi celule care infiltrează glomerulul, produc mediatori solubili care sunt incriminaţi în producerea semilunelor de tipul radicalilor de oxigen, metaboliţilor acidului arahidonic, proteaze, inhibitori ai proteazelor, factori de creştere de tipul factorului de creştere fibroblastic bazal şi factorul de transformare al creşterii $beta_1$, factori ai coagulării ai căii extrinseci de tipul tromboplastinei, agenţi vasoactivi produşi local ca angiotensina II, endotelina, factorul de relaxare derivat din endoteliu, citokine ca şi factorul de necroză tumorală alfa şi interleukina 1 alfa (Rondeau).

După Rondeau, procesul de coagulare cu formare de fibrină se datorează activării căii intrinseci a coagulării, precum şi a căii extrinseci. Celulele mezangiale activate, podocitele celulelor epiteliale şi monocitele/macrofagele exprimă tromboplastina ce activează calea extrinsecă, iar expunerea în

cursul procesului inflamator a colagenului MB glomerulare activează calea intrinsecă. Activitatea procoagulantă a celulelor intrinseci glomerulare este de 100–1 000 de ori mai mică decât cea a macrofagelor glomerulare (Holdsword și Tipping).

Trombina induce proliferarea celulelor glomerulare și limitează activitatea activatorului plasminogenului. Celulele epiteliale glomerulare cresc expresia inhibitorului plasminei în GN cu semilune, reprezentând un mecanism ce previne clearance-ul depozitelor imune.

În spațiul de filtrare se acumulează fibronectina care provine din plasmă, ca și cea care rezultă din producerea de către celulele epiteliale și mezangiale. Depunerea ei se face prin expresia unor receptori reprezentați de moleculele de adeziune alfa$_5$ beta$_1$. Expresia acestora se află sub controlul factorului de transformare al creșterii beta.

Acesta inhibă proteazele care tind să se opună depunerii de fibronectină sau alte substanțe proteice în spațiul de filtrare.

Fibroblaștii sub influența fibronectinei, care joacă un rol chemotactic, vor pătrunde în spațiul de filtrare. Sub influența factorului de transformare al creșterii beta și a factorului de creștere derivat din plachete va crește producția de colagen și de proteoglicani. Ca urmare se realizează un proces de fibrozare la nivelul glomerulului cu interesarea inițială a semilunelor.

În vasculitele autoimune este incriminat tipul III de hipersensibilitate.

După Robinson, în cursul unei infecții la bolnavii cu predispoziție pentru boală, se produce stimularea și activarea neutrofilelor, prin eliberare de citokine, și în primul rând a factorului de necroză tumorală.

Această citokină determină expresia moleculelor de adeziune pe endoteliul vascular și pe neutrofile. Aderența neutrofilelor de rețeaua vasculară din organism, fenomen care are loc și în rinichi, determină inflamația vasculară cu vasculita consecutivă. Neutrofilele ar fi în continuare activate in situ de ANCA. Ele vor elibera elastaza și catepsina C în exteriorul celulei, lezând MB. Proteinaza 3, care se produce la acest nivel, se poate lega de ANCA. Ca urmare ANCA reduce activitatea ei proteolitică, în timp ce activitatea elastinolitică este păstrată. Ea previne în același timp complexarea ei cu inactivatorul său principal reprezentat de către inhibitorul alfa$_1$ proteinazei.

Ca urmare, activitatea ei proteinolitică continuă. Persistența proteinazei permite interacțiunea antigenică cu limfocitele T autoreactive, ducând la exacerbarea răspunsului imun (Robinson).

La nivelul leziunii inflamatorii se produce și mieloperoxidaza, care prin producerea radicalilor de oxigen determină leziuni tisulare. Fenomenul se produce în poliarterita microscopică și în GN rapid progresivă idiopatică pauci-imună, în care, pe lângă formarea de semilune, se realizează și fenomene vasculare necrotizante. În aceste afecțiuni au fost puși în evidență anticorpi față de mieloperoxidaza leucocitară, definită P-ANCA.

Este posibil ca P-ANCA să permită o acțiune distructivă în continuare a enzimelor proteolitice la nivelul pereților vasculari.

Din punct de vedere terapeutic, se încearcă utilizarea de imunoglobuline polispecifice care conțin anti-idiotipi față de ANCA și previn expansiunea clonelor autoreactive. (Rossi și colab.). Anticorpii anti-idiotip apar de altfel în faza de remisiune a vasculitelor necrotizante.

Rossi, citat de Robinson, emite ipoteza că perturbarea echilibrului dintre rețeaua de idiotipi și anti-idiotipi este una din cauzele proceselor autoimune.

În prezent, se acordă o atenție sporită schimburilor plasmatice, tratamentului cu steroizi, precum și medicației imunosupresoare. Se utilizează și tratament anticoagulant.

Deși s-au obținut rezultate, uneori spectaculare, există un număr important de cazuri cu răspuns nesatisfăcător.

Tratamentul va trebui să realizeze în viitor interferarea acestor verigi patogenice, adresându-se inhibiției moleculelor de adeziune, a factorilor de creștere, prevenirea acumulării de fibrină, ca și a inhibiției anticorpilor patogeni (Rondeau).

BIBLIOGRAFIE

1. ABBOT, F.; RYAN, J.J.; CESKA, M.; MATSUSHIMA, K.; SARRAF, C.; REES, A.: – *Interleukin-1 β stimulates human mesangial cells to synthetise and release interleukin 6 and 8.* Kidney Int. 1991, 40, 597.
2. ADLER, S.; ENG, B.: – *Integrin receptors and function on cultured glomerular endothelial cells.* Kidney Int. 1993, 44, 278.
3. ALEXOPOULOS, E.; PAPAGIANNI, A.; PAPADIMITRIOU, M.: – *Role of the C_{5b-9} membrane attack complex in IgA nephropathy.* Nephrol. Dial. Transplant 1993, 8, 9, 890.
4. AMORE, A.; CAVALLO, F.; BOCCHIETTO, E.; BUSSOLINO, F.; GIANOGLIO, B.; PERUZZI, L.; PORCELLINI, M.G.; COPPO, R.: – *Cytokine mRNA expression by cultured rat mesangial cells after contact with environmental lectins.* Kidney Int. 1993, 43, suppl. 39, s–41.
5. ANDERSEN, C.B.; BLAEHR, H.; LANDERFOGED, S; LARSEN, S.: – *Expression of the intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in human renal allografts and cultured human tubular cells.* Nephrol. Dial. Transplant, 1992, 7, 147.
6. ATKINS, R.C.; THOMSON, N.M.: – *Rapidly progressive glomerulonephritis,* in SCHRIER, R.W.; GOTTSCHALK, C.W.: Diseases of the Kidney. V Ed. 1993, vol. II, 1689.
7. ATKIN, C.L.; GREGORY, M.C.: – *Alport syndrome* in SCHRIER, R.W., GOTTSCHALK, C.W. Diseases of the Kidney. V Ed. 1993, vol. I, p. 571.
8. BARBIOR, B.M.; – *Neutrophil function as related to neutrophil-endothelial cell interactions.* Nouv. Rev. Fr. *Hematol.* 1992, 34 (suppl) s: 29.

9. BACHMAN, S.; MUNDEL, P.; KRIZ, W.: – *Distribution of nitric oxide synthase (NOS) in the kidney.* J. Am. Soc. Nephrol. 1992, 3, 540.
10. BANNISTER, K.M.; ULICH, T.R.; WILSON, C.B.: – *Immunological mechanisms in experimental models of tubulo-interstitial nefritis* in DAVISON, A.M.: Nephrology, Ed. Baillere Tindall. London, Philadelphia. Toronto, 1988, p. 618.
11. BARALDI, A.; FURCI, L.; ZAMBRUNO, G.; DIFELICE, A.; MACCARI, D.; LUSVARGHI, E.: – *The integrins alpha$_3$ beta$_1$ and alpha$_v$ beta$_3$ are present on visceral glomerular ephitelial cells: an immunoelectron-microscopy study.* Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 892.
12. BAUD, L.; FOUQUERAY, B.; PHILIPPE, C.; AFFRES, H.: – *The biosynthesis and action of tumor necrosis factor alpha in the Kidney* in HATANO, M., Ed. Nephrology. Ed. Springer. Tokio, 1991, vol. II, 898
13. BENDER, J.R.: – *Lymphocyte-endhotelial cell interactions.* in Le ROY, E.C.: Systematic vasculitis – The biological basis. Ed. Dekker. New York, Basel, Hong Kong, 1992, 93.
14. BERNHEIM, J.: – *Arachnoidate metabolites in inflamation.* XII-th International Congress of Nephrology. Jerusalem, Israel, June 13–18 1993. abstracts 12.
15. BEUKHOF, J.R.; OCKHUIZEN, TH.; HALIE, L.M.; ESTRA, Y.; BEELEN, J.M.; DONKER, A.J.M.; HOEDENMAEKER, Ph. J.; VAN DER HEM, G.K.: – *Subentities within adult primary IgA nephropathty.* Clin. Nephrol. 1984, 22, 195.
16. BEVIZILACQUA, M.P.: – *Endhothelial-leukocyte adhesion molecules.* Annu. Rev. Immunol. 1993, 11, 767.
17. BORDER, W.A.; OKUDA, S.; LANGUINO, L.R.; SPORN, W.B.; RUOSLAHTI, E.: – *Suppresion of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor β$_1$.* Nature 1990, 346, 371.
18. BORDER, W.A.; NOBLE, N.A.; YAMAMOTO, T.; TOMOOKA, S.; KAGAMI, S.: – *Antagonists of transforming growth factor-β: A novel approach to treatment of glomerulonephritis and prevention of glomerulosclerosis.* Kidney Int. 1992, 41, 566.
19. BRENNER, B.M.; KING, A.J.: – *The renal biology of endothelins.* in HATANO, M. ed. Nephrology. Ed. Springer Tokio. 1991, vol. II, 908.
20. BRISCOE, D.; COTRAN, R.S.: – *Role of leukocyte-endothelial cell adhesion molecules in renal inflamation: in vitro and in vivo studies.* Kidney Int. 1993, 44, suppl 42, S: 27.
21. CAMERON, J.S.: – *The future of nephrology with special regard to advances in treatment.* Kidney Int. 1992, 42, suppl. 38, S: 203.
22. CAMUSSI, G.; BIANCONE, L.; IORIO, E.L.; SILVESTRO, L.; DA COL, R.; CAPASSO, C.; ROSSAND, F.; SERVILLO, L.; BALESTRIERI, C.; TUFANO, M.A.: – *Porins and lipopolysaccharide stimulate platelet activating factor synthesis by human mesangial cells.* Kidney Int. 1992, 42, 1309.
23. CATTELL, V.; COOK, H.T.: – *Nitric oxide: role in the physiology and pathology of the glomerulus.* Exp. Nephrol. 1993, 1, 265.
24. CATTELL, V.; COOK, T.; MONCADA, S. – *Glomeruli synthesize nitrite in nephrotoxic nephritis.* Kidney Int. 1990, 38, 1056.
25. CATTELL, V.; LIANOS, E.; LARGEN, P.; COOK, T.: – *Glomerular NO synthase activity in mesangial cell immune injury.* Exp. Nephrol. 1993, 1, 36.
26. CLARKSON, A.; WOODROFF, E.; AARONS, I.: – *IgA Nephropathy and Henoch-Schönlein Purpura* in SCHRIER, R.W.; GOTTSCHALK, C.W.; Diseases of the Kidney. V. Ed. 1993, vol. II, 1839.
27. COGGINS, C.H.: – *Membranous nephropathy* in SCHRIER, R.W.; GOTTSCHALK, C.W.: Diseases of the Kidney. V Ed. 1993, vol. II, 1785.
28. COIMBRA, T.; WIGGINS, R.; NOH, J.W.; MERRIT, S.; PHAN, S.H.: – *Transforming growth factor-β production in anti-glomerular basement membrane disease in the rabbit.* Am. J. Pathol. 1991, 138, 223.
29. COLEMAN, D.L.; RUEF, C.: – *Interleukin-6. An autocrine regulator of mesangial cell growth.* **Kidney Int. 1992, 41, 604.**

30. COOK, H.T.; SULLIVAN, R.: – *Glomerular nitrite synthesis in the in situ immune complex glomerulonephritis in the rat.* Am. J. Pathol. 1991, 139, 1047.
31. COUPES, B.M.; KON, S.P.; BRENCHLEY, P.E.C.; SHORT, C.D.; MALLICK, N.P.; – *The temporal relationship between urinary C_{5b-9} and C3dg and clinical parameters in human membranous nephrophaty.* Nephrol. Dial. Transplant 1993, 8, 397.
32. COUSER, W.G.: – *Pathogenesis of glomerulonephritis.* Kidney Int. 1993, 44, suppl 42, S: 19.
33. COSIO, F.G.; SEDMAK, D.D.; NAHMAN, N.S.: – *Cellular receptors for matrix protein in normal human kidney and human mesangial cells.* Kidney Int. 1990, 38, 886.
34. COUSER, W.G.: – *Glomerular injury induced by the C_{5b-9} membrane attack complex of complement.* in HATANO, M. ed. Nephrology: Springer Verlay Tokio, 1991, vol. I, 182.
35. CUZIC, S.; RITZ, E.; WALDHERR, R.: – *Dendritic cells in glomerulonephritis.* Virchows Archiv B Cell Pathol. 1992, 62, 357.
36. CYBULSKY, A.W.; CARBONETTO, S.; HUAMG, Q.; McTAVISH, A.; CYR, M.D.: – *Adhesion of rat glomerular epithelial cells to extracellular matrices: Role of β_1 integrins.* Kidney Int. 1992, 42, 1099.
37. DAVIES, M.; THOMAS, G.Y.; SHEWRING, L.; MASON, R.M.: – *The proteoglycans of glomerular mesangial cells in HATANO,* M. ed. Nephrology. Ed. Springer Tokio, 1991, vol. II, 1144.
38. DE CATERINA, R.; CAPRIOLI, R.; GIANNESI, D.; SICARI, R.; GALLI, C.; LAZZERINI, G.; BERINI, W.; CARR, L.; RINDI, P.: – *N-3 fatty acids, reduce protenuria in patients with chronic glomerular disease.* Kidney Int. 1993, 44, 843.
39. DIAZ-GALLO, C.; KELLEY, V.R.: – *Self-regulation of autoreactive Kidney-infiltrating T cells in MRL-L-pr nephritis.* Kidney Int. 1993, 44, 692.
40. DONADIO Jr. J.V.: – *Membranoproliferative glomerulonephritis* in SCHRIER, R.W.; GOTTSCHALK, C.W.: Diseases of the Kidney V Ed. 1993, vol. II, 1815.
41. D'SOUZA, R.J.; PHILLIPS, H.M.; DAVIES, S-J.; JONES, P.V.; STRANGE, R.C.; ABER, G.M.: – *Interrelated effects of reactive oxigen species,* IL6 and PDGF on mesangial cell growth. (Abstract). Nephrol. Dial. Transpl. 1993, 8, 9, 895.
42. EGIDO, J.; BLASCO, R.; SANCHO, J.; LOZANO, I.: – *T-cell dysfunctions in IgA nephrophaty: specific abnormalities in the regulation of IgA synthesis.* Clin. Immunol. Immunopathol. 1983, 26, 201.
43. EMANCIPATOR, S.N.; SEDOR, J.R.: – *Cytokines and renal disease* in KUNKEL, S.L.; REMICK, D.G. eds: Cytokines in Health and Disease. Boston, Marcel Dekker, 1992, 467.
44. FALK, R.J.; HOGAN, S.; CAREY, T.S.; JENNETTE, J.C.: – *Clinical course of anti-neutrophil autoantibody-associated glomerulonephritis and systemic vasculitis.* Ann. Intern. Med. 1990, 113, 656.
45. FATAMURA, A.; IIDA, H.; IZUMINO, K.; ENTANI, C.; TAKATA, M.: – *Effect of the platelet-derived growth factor (PDGF) antagonist trapidil on rat mesangial cell proliferation* (Abstract). J. Am. Soc. Nephrol. 1992, 3, 588.
46. FAULL, R.J.; RUSS, G.R.: – *Tubular expresion of intercellular adhesion molecule-1 during renal allograft rejection.* Transplantation 1989, 48, 226.
47. FELLSTROM, B.; KLARESKOG, L.; HELDIN, CH.; LARSSON, E.; RONNSTRAND, L.; TERRACIO, L.; TUFVESON, G.; WAHLBERG, C; RUBIN KELLEY, V.: – *Platelet – derived growth factor receptors in the kidney up-regulated expression in inflamation.* Kidney Int. 1989, 36, 1099.
48. FOGO, A; HELLINGS, S.E.; INAGAMI, T.; KON, V.: – *Endhotelin receptor antagonism in protective in in vivo acute cyclosporine toxicity.* Kidney Int. 1992, 42, 70.
49. FLOEGE, J.; ENG, E.; YOUNG, B.A.; JOHNSON, R.Y.: – *Factors involved in the regulation of mesangial cell proliferation in vitro and in vivo.* Kidney Int. 1993, 43, suppl. 39, S: 47.
50. GARG, U.C.; HASSID, A.: – *Inhibition of rat mesangial cell mitogenesis by nitric oxide-generating vasodilators.* Am. J. Physiol. 1989, 257, F60.

51. GARNER, C.M.; PALL, A.; MICHAEL, J.; RICHARDS, N.T.; TAYLOR, C.M.; ADU, D.: – *ICAM-1 and LFA-1 mediate adhesion of PLBS to human glomerular ephitelial cells* (Abstract). Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 897.
52. GARNER, C.M.; RICHARDS, G.; ADU, D.; RICHARDS, N.T.; TAYLOR, C.M.; MICHAEL, J.: – *Human glomerular ephitelial expression of VCAM-1 and ICAM-1* (Abstract). Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 896.
53. GESUALDO, L.; RANIERI, E.; PANNARALE, G.; DI PAOLO, S.; SCHENA, F.P.: – *Platelet-derived growth factor and proliferative glomerulonephritis* Kidney Int. 1993, 43, suppl. 39, S: 86.
54. GOODYER, P.R.; FATA, J.; MULLIGAN, L.; GOODYER, C.G.; GUYDA, H.; FISCHER, D.: – *Expression of growth-related genes in human fetal kidney* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springer Tokio. 1991, vol. II. 1298.
55. GORBUNOV, N.; ESPOSITO, E.: – *Nitric oxide as a mediator of inflamation.* Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 1993, 6, 1, 67.
56. HAMMERMAN, M.R.; MILLER, S.B.: – *Growth hormone, Insuline-like growth factor I, and kidney* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springer Tokio. 1991, vol. II. 1304.
57. HARPER, S.J.; FEEHALLY, J.: – *The pathogenic role of immunoglobulin A polymers in immunoglobulin A Nephropathy.* Nephron 1993, 65, 337.
58. HAY, F.: – Hypersensitivity-Type III. in ROIT, I.; BROSTOFF, Y.; MALE, D.: Eds. *Immunology 2nd ed Gower Medical Publishing.* London 1989, 211.
59. HARRIS, R.C.: – *Epidermal growth factor and the kidney* in HATANO, M. Ed. Nephrology Ed. Sprigner Tokio. 1991, vol. II, 1311.
60. HEIDENREICH, S.; CROUT, Y.; LANG, D.; TEPEL, M.; SPIEKER, C.; RAHN, K.H.: – *Isolated monocytes produce enhanced amount of tumor necrosis factor and interleukin-6 during chronic renal allograft rejection.* (Abstract). Gesellschaft für Nephrologie 23rd Congress Hannover, Germany. September, 27–30, 1992, Kidney Int. 1993, 43, 256.
61. HOLDSWORTH, S.R.; TIPPING, P.G.: – *Mechanisms of glomerular fibrin deposition in glomerulonephritis* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springler-Verlag. Tokio, 1991, vol. I, p. 209.
62. HOOKE, D.H.; GEE, D.C.; ATKINS, R.C.: – *Leukocyte analysis using monoclonal antibodies in human glomerulonephritis.* Kindey Int. 1987, 31, 964.
63. HOTTA, O.; TAGUMA, V.; OOYAMA, M.; YUSA, N.; NAGURA, H.; – *Analysis of CD_{14+} cells and CD_{56+} cells in urine using flow cytometry: A useful tool for monitoring disease activity of IgA nephropathy.* Clinical Nephrophaty. 1993, 39, 6, 289.
64. HRUBY, Z.W.; SHIROTA, K.; JOTHY, S.; LOWRY, R.P.: – *Antiserum against tumour necrosis factor alpha and a protease inhibitor reduce immune glomerular injury.* Kidney Int. 1991, 40, 43.
65. HUNT, L.: – *Expression of E-selectin in the human kidney.* Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 1428.
66. IVERSEN, B.M.; VEDELER, C.A.; MATRE, R.; SVARSTAD, E.: – *CR_1 activity on erythrocytes and renal glomeruli in patients with renal disorders.* Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 1211.
67. JAFFER, F.E.; KNAUSS, T.C.; POPTIC, E.; ABBOUD, H.E.: – *Endothelin stimulates PDGF secretion in cultured human mesangial cells.* Kidney Int. 1990, 78, 1193.
68. JOHNSON, R.J.; FLOEGE, Y.; COUSER, W.G.; ALPERS, C.E.: – *Role of platelet-derived growth factor in glomerular disease.* J. Am. Soc. Nephrol. 1993, 4, 119.
69. JOHNSON, R.; IIDA, H.; YOSHIMURA, A.; FLOEGE, J; BOWEN-POPE, D.F.: – *Platelet-derived growth factor: A potentially important cytokine in glomerular disease.* Kidney Int. 1994, 41, 590.
70. KANAME, S.; UCHIDA, S.; OGATA, E.; KUROKAWA, K.: – *Autocrine secretion of transforming growth factor-β in cultured rat mesangial cells.* Kidney Int. 1992, 42 1319.
71. KARET, F.E.; KUC, R.E.; DAVENPORT, A.P.: – *Novel ligands BQ123 and BQ3020 characterise endothelin in receptor subtypes ET_A and ET_B in human kidney.* Kidney Int. 1993, 44, 36.

72. KERJASCHKI, D.; OJHA, P.P.; SUSANI, M.; HORVATH, R.; BINDER, S.; HOVORKA, A.; HILLERMANNS, P.; PYTELA, R.: – *A beta 1-integrin receptor for fibronectin in human kidney glomeruli.* Am. J. Pathol. 1989, 134, 481.
73. KERJASCHKI, D.; SCHULTZE, M.; BINDER, S.; KAIN, R.; OJHA, P.P.; SUSANI, M.; HORVATH, R.; BAKER, P.J.; COUSER, W.G.: – *Transcellular transport and membrane insertion of the C_{5b-9} membraneattack complex of complement by glomerular epithelial cells in experimental membranous nephropathy.* J. Immunol. 1989, 143, 546.
74. KINCAID-SMITH, P.; NICHOLLS, K.; BIRCHALL, I.: – *Polymorphs infiltrate glomeruli in mesangial IgA glomerulonephritis.* Kidney Int. 1989, 36, 1108.
75. KOHAN, D.E.: – *Endothelins in the kidney: physiology and pathophysiology.* Amer. J. Kidney. Dis. 1993, 22, 4, 493.
76. KON, V.: – *Endothelin in renal disease* in HATANO, M. ed. Nephrology. Ed. Springer Tokio, 1991, vol. II, 1210.
77. KON, V.; BADR, K.F.: – *Biological actions and pathophisiologic significance of endothelin in the kidney.* Kidney Int. 1991, 40, 1.
78. KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D.N.: – *Nitric oxide. An endogenous modulator of leukocyte adhesion.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991, 88, 4651.
79. LAI, K.V.: – *The cellular immunity and nature of IgA molecules in IgA nephropathy.* in BENE, M.C.; FAURE, G.C.; KESSLER, M.: (eds) IgA Nephropathy. The 25th year. Contrib. Nephrol. Basel Karger, 1993, 104, 93.
80. LASZIK, Z.; NADASDY, T.; JOHNSON et all.: – *Transient expression of ELAM-1 in endotoxin and E. Coli-induced septic shock in rat kidney.* Abstract. J. Am. Soc. Nephrol. 1992, 3, (3), 601.
81. LEFKOWITH, J.B.; WU, S.: – *Attenuation of immune-mediated glomerulonephritis with anti-CD_{11b} monoclonal antibody.* J.A.S.N. 1992, 3, 601.
82. LE MAUFF, B.; HOURMANT, M.; ROUGIER et al.: – *Effect of anti-LFA_1 (CD_{112}) monoclonal antibodies in acute rejection, in human kidney transplantation.* Transplantation, 1989, 48, 226.
83. LI, H.L.; HANCOCK, W.W.; DOWLING, J.P.; ATKINS, R.C.: – *Activated (IL_{2R+}) intraglomerular mononuclear cells in crescentic glomerulonephritis.* Kidney Int. 1991, 39, 793.
84. LOCKWOOD, C.M.: – *New perspectives on systemic vasculitis: Implications for diagnosis and treatment.* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springer Tokio, 1991, vol. II, 1276.
85. MAHAN, J.D.; HEBERT, L.A.; McALLISTER, C.; BIRMINGHAM, D.J.; SHEN, X-P.; COSIO, F.G.; BRANDT, J.: – *Platelet involvment in experimental immune complex-mediated glomerulonephritis in the nonhuman primate* Kidney Int. 1993, 44, 716.
86. MARSDEN, P.A.; CYBULSKY, M.I.; BRENNER, B.M.; BRADY, H.R.: – *Regulated expression of vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) in human glomerular mesangial cells (MC).* Abstract. J. Am. Soc. Nephrol. 1991, 2, 553.
87. MATHIESON, P.W.; PETERS, D.K.: – *Deficiency and depletion of complement in the pathogenesis of nephritis and vasculitis.* Kidney Int. 1993, 44, suppl. 42, S: 13.
88. MATSUKURA, H.; BUTKOWSKI, R.J.; FISH, A.J.: – *The Goodpasture antigen: common domains of collagen IV.* Nephron. 1993, 64, 532.
89. MATSUMOTO, K.; HATANO, M.: – *Production of interleukin 1 in glomerular cell cultures, from rats with nephrotoxic serum nephritis.* Clin. Exp. Immunol. 1989, 75, 123.
90. MONTEIRO, R.C.; HALBWACHS-MECARELLI, L.; ROQUE-BARREIRA, M.C.; NOEL, C.H.; BERGER, J.; LESAVRE, P.: – *Charge and size of mesangial IgA in IgA nephropathy.* Kidney Int. 1985, 28, 666.
91. MOORE, R.H.: – *Immunogenetics of IgA nephropathy.* J. Nephrol. 1992, 4, 1.
92. MOORE, R.: – *MHC gene polymorphism in primary IgA nephropathy.* Kideny Int. 1993, 43, suppl. 39, S: 9.

93. MOUTABARRIK, A.; NAKANISHI, I.; ISHBASHI, M.; ZAID, D.: – *Glomerular ephitelial cells in local inflamation: induction of the expression of MHC class II antigens by IFNγ and cytokine regulation of intercellular adhesion molecule-1 expression (ICAM-1).* (Abstract). Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 899.
94. MULLIGAN, M.S.; JOHNSON, K.J.; SMITH, C.W.: – *Role of β_2 integrins, VLA_4 and ICAM-1 in nephrotoxic nephritis.* J.A.S.N. 1992, 3, 605.
95. MULLIGAN, M.S.; JOHNSON, K.J.; TODD, R.F. et al.: – *Requirement for leukocyte adhesion molecules in nephrotoxic nephritis.* J. Clin. Invest. 1993, 91, 577.
96. NAKAJIMA, M.; HEWITSON, T.A.; MATHEWS, D.C.; KINCAID-SMITH, P.: – *Platelet-derived growth factor mesangial deposits in mesangial IgA glomerulonephritis.* Nephrol. Dial. Transplant. 1991, 6, 11.
97. NIEMIR, Z.; NORONHA, I.; RITZ, E.; WALDHER, R.: – *Cytokine expression in mesangial IgANG* (Abstract). Nephrol. Dial. Transplant. 1993. 8, 9, 901.
98. NOBLE, B.K.: – *Immunologically complex kidneys.* Lancet. 1993, 342, 1250.
99. NORIS, M.; MACCONI, D.; NANNI, V.; SALMONA, M.; TODESCHINI, M.; REMUZZI, G.: – *Defective glomerular (3_H) lyso PAF metabolism in the autologus phase of rabbit nephrotoxic nephritis.* Kidney Int. 1993, 44, 747.
100. OKUDA, S.; LANGUINO, L.R.; RUOSLAHTI, E.; BORDER, W.A.: – *Elevated expression of transforming growth factor-β and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis. Possible role in expansion of the mesangial extracellular matrix.* J. Clin. Invest. 1990, 86, 453.
101. PALL, A.; GARNER, C.M.; RICHARDS, N.T.; TAYLOR, M.; ADU, D.; MICHAEL, J.: – *Circulating adhesion molecules in vasculitis.* (Abstract). Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 926.
102. PALMER, R.M.J.; BRIDGE, L.; FOXWELL, N.A.; MONCADA, S.: – *The role of nitric oxide in endothelial cell damage and its inhibition by glucocorticoids.* Br. J. Pharmacol. 1992, 105, 11.
103. PARRA, G.; ROMERO, M.; HENRIQUEZ, C.; PINEDA, R.; CUENCA, B.; RODRIGUEZ-ITURBE: – *Expression of adhesion molecules in acute poststreptococcal glomerulonephritis.* Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 902.
104. PASSWELL, J.; SCHREINER, G.F.; NONAKA, M.; BEUSCHER, H.U.; COLTEN, H.R.: – *Local extrahepatic expression of complement genes C_3, factor β, C_2 and C_4 is increased in murine lupus nephritis.* J. Clin. Invest. 1988, 82, 1676.
105. PERUZZI, L.; AMORE, A.; GIANOGLIO, B.; PORCELLINI, M.G.; MARCISIO, P.C.; COPPO, R.: – *Integrin expression and topography in normal human kidney tubular cells.* (Abstract). Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 902.
106. PFEILSCHIFTER, J.: – *Platelet-derived growth factor inhibits cytokine madiator of glomerular mesangial cells.* Eur. J. Pharmacol. 1991, 208, 339.
107. PFEILSCHIFTER, J.; KUNZ, D.; MOHL, H.: – *Nitric oxide: an inflamatory mediator of glomerular mesangial cells.* Nephron. 1993, 64, 518.
108. PFEILSCHIFTER, J.; ROB, P.; MULSCH, A.; FANDREY, J; VOSBECK, K.; BUSSE, R.: – *Interleukin 1β and tumour necrosis factor alfa induce a macrophage-type of nitric oxide synthase in rat mesangial cells.* Eur. J. Biochem. 1992, 203, 251.
109. PFEILSCHIFTER, J.; SCHWARZENBACH, H.: – *Interleukin 1 and tumorur necrosis factor stimulate cGMP formation in rat renal mesangial cells.* FEBS. LETT. 1990, 273, 185.
110. PFEILSCHIFTER, J.; VOSBECK, K.: – *Transforming growth factor β_2 inhibits interleukin 1β and tumour necrosis factor alfa – induction of nitric oxide synthase in rat mesangial cells.* Biochem. Biophys. Res. 1991, 175, 372.
111. PUSEY, C.D.; PETERS, D.K.: – *Immunopathology of glomerular and interstitial disease* in SCHRIER, R.W.; GOTTSCHALK, C.W. Diseases of the kidney. V Ed. 1993, vol. II, 1647.
112. RADEKE, H.H.; FRANCKI, A.; der OHE, J.; RESCH, K.: – *The autocrine growth regulation on human glomerular mesangial cells (HMC) and the role of interleukin 6.* Abstract. Gesellschaft für Nephrologie. 23-rd Congress Hannover, Germany. September 27–30 1992. Kidney Int. 1993, 43, 241.

113. REDEKE, H.H.; MITTERMAIR, C.; EMMENDÖRFFER, A.; SCHINDLER, R.; RESCH, K.: – *Interleukin-6 secreted by human glomerular mesangial cells (HMC).* Abstract. Kidney Int. 1992, 41, 3, 698.
114. RADOMSKI, M.W.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S.: – *An L-arginine nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990, 87, 5193.
115. REBIBOU, J.M.; HE, C.J.; DELARUE, F.; PERALDI, M.N.; ADIDA, C.; RONDEAU, E.; SRAER, J.D.: – *Functional endothelin 1 receptors on human glomerular podocytes and mesangial cells.* Nephrol. Dial. Transplant. 1992, 7, 288.
116. REMUZZI, G.; BERTANI, T.; SCHIEPPATI, A.: – *Report of a meeting of Physicians and Scientists,* Clinical Research Center for Rare Diseases, Mario Negri Institute Bergamo. Idiopathic membranous nephropathy. Lancet, 1993, 342, 1277.
117. RIFAI, A.: – *Pathogenesis of IgA immune complex mediated glomerulonephritis* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springer, Tokio, 1991, vol. II, 996.
118. ROBINSON, A.J.: – *Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and the systemic necrotizing vasculitis.* Nephrol. Dial. Transplant. 1994, 9, 119.
119. ROCCATELLO, D.; COPPO, R.; PICCOLI, G.; CORDONNIER, D.; MARTINA, G.; ROLLINO, C.; PICCIOTTO, G.; SENA, L.M.; AMOROSO, A.: – *Fc receptors blocking factors in IgA nephropathies.* Clin. Nephrol. 1985, 23, 159.
120. RONDEAU, A.: – *Coagulation, fibrinolyisis and giomerular injury.* XII-th International Congress of Nephrology. Jerusalem, Israel, lune 13–18 1993, Abstracts, 12.
121. RONDEAU, E.: – *Current treatment of crescentic glomerulonephritis.* J. of Nephrology. 1993, 6, 1, 14.
122. ROSSI, F.; JAYNE, D.R.W.; LOCKWOOD, C.M.; KAZATCHKINE, M.D.: – *Anti-idiotypes against anti – neutrophil cytoplasmic antigen autoantibodies in normal human polyspecific IgG for therapeutic use and in the remission sera of patients with systemic vasculitis.* Clin. Exp. Immunol. 1991, 83, 298.
123. ROY-CHAUDHURY, P.; WU, B.; McDONALD, S.; HAITES, N.E.; JONES, M.C.; MACLEOD, A.M.; SIMPSON, J.G.; POWER, D.A.: – *Adhesion molecules and cellular infiltrates in the pathogenesis of THY1 glomerulonephritis.* Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 894.
124. RUDER, H.; SCHARER, K.; OPELZ, G. et all.: – *Human leukocyte antigens in idiopathic nephrotic syndrome in children.* Pediatr. Nephrol. 1990, 4, 478.
125. RYFFEL, B.; MIHATSCH, M.J.: – *Mesangial glomerulonephritis in rats induced by recombinant human interleukin-6.* (Abstract). Kidney Int. 1992, 42, 3, 80.
126. SABATIER, J.C.; GENIN, C.; ASSENAT, H.; COLON, S.; DUCRET, F.; BERTHOUX, F.C.: – *Mesangial IgA glomerulonephritis in HLA identical twins.* Clin. Nephrol. 1979, 11, 39.
127. SACKS, S.H.; WARNER, C.: CAMPBELL, D.; DUNHAM, I.: – *Molecular mapping of the HLA class II region in HLA-DR_3 associated idiopathic membranous nephrophathy.* Kidney Int. 1993, 43, suppl. 39, S: 13.
128. SACKS, S.H.; ZHOU, W.; ANDREWS, P.A.; HARTLEY, B.: – *Endogenous complement* C_3 synthesis in immune complex nephritis. Lancet. 1993, 342, 1273.
129. SAKAI, H.; MIYAZAKI, M.; ENDOH, M.; NOMOTO, Y.: – *Increase of IgA-specific switch T cells in patients with IgA nephropathy.* Clin. Exp. Immunol. 1989, 78, 378.
130. SAKAI, H.: – *IgA nephropathy: recent views on pathogenesis and treatment* in HATANO, M. Nephrology. Ed. Springer. Tokio, 1991, vol. I, 62.
131. SALANT, D.J.; MADAIO, M.P.; ADLER, S.; STILMANT, M.N.; COUSER, W.G.: – *Altered glomerular permeability induced by F (ab') 2 and Fab'antibodies to rat renal tubular epithelial antigen.* Kidney Int. 1981, 21, 36.
132. SANFILIPPO, F.; CROKER, B.P.; BOLLINGER, R.B.: – *Fate of four cadaveric donor allografts with mesangial IgA nephropathy.* Transplantation 1982, 33, 370.
133. SARREL, P.M.; LINDSAY, D.C.; POOLE-WILSON, P.A.; COLLINS, P.: – *Hypotesis: Inhibition of endothelium-derived relaxing factor by haemoglobin in the pathogenesis of pre-eclampsia.* Lancet. 1990, 336, 1030.

134. SATO, M.; ASAKURA, H.; HAIZUKA, N.; MAEDA, T.: – *Mesangial expression of intercellular adhesion molecule-1 in IgA nephropathy.* (Abstract). Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 905.
135. SAVILL, J.: – *Apoptosis: A mecahnism for regulation of the cell complement of inflamed glomeruli.* Kidney Int. 1992, 41, 607.
136. SAVIN, M.; PETRONIC, N.; BASTA-JOVANOVIC, G.; STOJKOVIC, D.; MATIJASEVIC, G.; SINDJIC, M.: – *ICAM-1 expression in renal allograft with cyclosporin nephropathy.* Nephrol. Dial. Transplant. 1993, 8, 1050.
137. SCHIFFERLI, J.A.; NGY, C.; PETERS, D.K.: – *The role of the complement and its receptors in pathological renal glomeruli.* N. Engl. J. Med. 1986, 315, 488.
138. SCHLÖNDORFF, D.: – *Potential role of chemotactic cytokines in glomerular injury.* Clin. Investig. 1993, 71, 815.
139. SCHNAPER, H.W.; ROBSON, A.M.: – *Nephrotic syndrome: minimal change disease, focal glomerulosclerosis and related disorders* in SCHRIER, R.W.; GOTTSCHALK, C.W. Diseases of the kidney. V Ed. 1993, vol. II, 1731.
140. SCHMIEDECKE, T.M.J.; STÖCKL, F.W.; WEBER, R.; SUGISAKI, Y.; BATSFORD, S.R.; VOGT, A.: – *Histones have high affinity for the glomerular basement membrane.* J. Exp. Med. 1989, 16, 1879.
141. SCHMOUDER, R.L.; STRIETER, R.M.; KUNKEL, S.L.: – *Interferon-γ regulation of renal cortical epithelial cell-derived monocyte chemotactic peptide-1.* Kidney Int. 1993, 41, 43.
142. SCHULZE, M.; BRUNKHORST, R.; FREI, U.; KOCH, K.M.: – *Elevated urinary C_{5b-9} excretion indicates progression of membranous nephropathy (MN).* Abstract. Geselschaft für Nephrologie 23-ed. Congress. Hanover, Germany. September 27–30. 1992. Kidney Int. 1993, 43, 250.
143. SEDOR, J.R.; NAKAZATO, Y.; KONIECZOWSKI, M.: – *Interleukin-1 and the mesangial cell.* Kidney Int. 1992, 41, 595.
144. SEVER, R.; COOK, T.; CATTEL, V.: – *Urinary excretion of nitrite and nitrate in experimental glomerulonephritis reflects systemic immune activation and not glomerular synthesis.* Clin. Exp. Immunol. 1989, 90, 326.
145. SHAH, S.: – *Role of reactive oxygen metabolites (ROM) in glomerular injury.* XII-th International Congress of Nephrology. Jerusalem, Israel, June 13–18 1993. Abstracts, 13.
146. SHAH, S.V.: – *Role of reactive oxygen metabolites in experimental glomerular disease.* Kidney Int. 1989, 35, 1093.
147. SHIBOUTA, Y.; SUZUKI, N.; SHINO, A.; MATSUMOTO, H.; TERASHITA, Z.I.; KONDO, K.; NISHIKAWA, K.: – *Pathophisiological role of endothelin in acute renal failure.* Life. Sci. 1990, 46, 22, 1611.
148. SHULTZ, P.; RAIJ, I.: – *Endogenously synthesized nitric oxide prevents endotoxin-induced glomerular thrombosis.* J. Clin. Invest. 1992, 90, 1718.
149. SHULTZ, P.J.; TAYEH, M.A.; MARLETTA, M.A.; RAIJ, L.: – *Synthesis and action of nitric oxide in rat glomerular mesangial cells.* Am. J. Physiol. 1991, 261, F: 600.
150. SIMONSON, M.S.; OSANAI, T.; DUNN, M.J.: – *The cell biology of endotelin peptides: insights from studies* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Springer Tokio, 1991, vol. II, 1218.
151. SRAER, J.D.; KANFER, A.; RONDEAU, E.; LACAUX, R.: – *Glomerular hemostasis in normal and pathologic conditions.* Adv. Nephrol. 1988, 17, 27.
152. STAHL, R.; DISSER, M.; HORA, K.; SCHLÖNDORFF, D.: – *Increased expression of monocyte chemoattractant protein in glomeruli from rats with anti Thy-1 glomerulonephritis.* Kidney Int. 1993.
153. STEINMAN, R.M.: – *The dendritic cell system and its role in immunogenicity.* Annu. Rev. Immunol. 1991, 9, 271.
154. STERZEL, R.B.: – *Mesangial cells, cytokines and extracellular matrix.* XII-th International Congress of Nephrology, Jerusalem, Israel, June 13–18 1993, Abstracts.
156. STERZEL, R.B.; SCHULZE-LOHOFF, E.; MARX, M.: – *Cytokines and mesangial cells.* Kidney Int. 1993, 43, suppl. 39, S: 26.

157. STRIKER, L.J.: – *Effect of insulin-like growth factor I on glomerular cells in vitro.* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springer. Tokio, 1991, vol. II, 915.
158. SUTHANTHIRAN, M.: – *Signaling features of T cells: Implications for the regulation of the anti-allograft response.* Kidney Int. 1993, 44, suppl. 43, S: 3.
159. TIPPING, P.G.; LEONG, T.W.; HOLDSWORTS, S.R.: – *Tumor necrosis factor production by glomerular macrophages in anti-glomerular besement membrane glomerulonephritis in rabbits.* Lab. Invest. 1991, 65, 272.
160. TOBACK, F.G.; KARTHA, S.; WALSH-REITZ, M.M.: – *Determinants of autocrine and paracrine growth factor release by kidney epithelial cells.* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springer Tokio, 1991, vol. II, 1322.
161. TOLKOFF-RUBIN, N.E.; COSIMI, A.B.; FULLER, T.; RUBIN, R.H.; COLVIN, R.B.: – *IgA nephropathy in HLA – identical siblings.* Transplantation 1978, 26, 430.
162. TURNER, N.; LOCKWOOD, C.M.; REES, A.J.: – *Antiglomerular basement membrane antibody – mediated nephritis.* in SCHRIER, R.W., GOTTSCHALK, C.W. Diseases of the kidney. V ed. 1993, vol. II, 1865.
163. UCHIDA, S.; NARUSE, M.; KANAME, S.; HORIE, M.; OCATA, E.; KUROKAWA, M.; YANAGISAWA, M.; MASSAKI: – *Endothelin action and production in renal tubular cells* in HATANO, M. Ed. Nephrology. Ed. Springer. Tokio, 1991, Vol. II, 1229.
164. VALLANCE, P.; LEONE, A.; CALVER, A.; COLLIER, J.; MONCADA, S.: – *Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxyde synthesis in chronic renal failure.* Lancet 1992, 339, 572.
165. VAN ES, L.A.; DAHA, M.R.; HALMA, C.; van der WOUDE, F.J.: – *The specificity of the autoimune response in vasculitis* in HATANO, M. Ed. 1991, Nephrology. Ed. Springer. Tokio. vol. II, 1270.
166. VEDELER, C.A.; MATRE, R.; IVERSEN, B.M.: – *Glomerular CR_1 express in situ cofactor activity for degradation of C_{3b}.* Int. Arch. Allergy Immunol. 1990, 92, 60.
167. VOGT, A.: – *In situ immune complex nephritis* in Hatano M. Ed. Nephrology. Ed. Springer. Tokio. 1991, vol. II, 990.
168. WARMOLD, A.; van den WALL BAKE, L.; BRUIJN, J.A.; ACCAVITTI, M.A.; CROWLEY-NOWICK, P.A.; SCHROHENLOHER, R.E.; JULIAN, B.A.; JACKSON, S.; KUBAGAWA, H.; COOPER, M.D.; DAHA, M.R.; MESTECKY, J.: – *Shared idiotypes in mesangial deposits in IgA nephropathy are not disease – specific.* Kidney Int. 1993, 44, 65,
169. WEBER, M.: – *Rapidly progressive glomerulonephritis: recent advances in pathogenesis, diagnosis and therapy.* Clin. Investig. 1993, 71, 825.
170. WHITE, R.H.R.: – *The familial nephrotic syndrome.* I. A. European Survey. Clin. Nephrol. 1973, 1, 215.
171. WILLIAMS, G.D.: – *Pathogenesis of idiopathic IgA nephropathy* Pediatr. Nephrol. 1993, 7, 303.
172. WOLF, G.; ABERLE, S.; THAISS, F.; NELSON, P.J.; KRENSKY, A.M.; NEILSON, E.G.; STAHL, R.A.K.: – *TNFα induces expression of chemoattractant cytokine RANTES in cultured mouse mesangial cells.* Kidney Int. 1993, 44, 795.
173. WYATT, R.J.: – *The complement system in IgA Nephropathy and Henoch-Schönlein Purpura. Functional and genetic aspects.* in BENE, M.C.; FAURE, G.C.; KESSLER, M. (eds.). IgA Nephropathy: The 25-th year. Contrib. Nephrol. Basel. Karger. 1993, 104, 82.
174. YAMANAKA, N.; ISHIZAKI, M.: – *Anti-thymocyte antiboby induced mesangiolytic nephritis* in HATANO, M. Ed. Springer. Tokio, 1991, vol. II, 1004.
175. YOSHIOKA, K.; TAKEMURA, T.; MURAKAMI, K.; OKADA, M.; YAGI, K.; MIYAZATO, H.; MATSUSHIMA, K.; MAKI, S.: – *In situ expression of cytokines in IgA nephritis.* Kidney Int. 1993, 44, 825.
176. ATKINS, R.C.; LAN, H.L. NIKOLIC-PATERSON, D.J.; HILL, P.A.: – *Adhesion molecules in glomerulonephritis* XII th International Congress of Nephrology Jerusalem, Israel, June 13–18, 1993. Abstracts, 4.

177. ARDAILLOU, R.: – *Glomerular cells as targets and reactans in injury: an overview* XII th International Congress of Nephrology-Jerusalem, Israel, June 13–18, 1993, 9.
178. BORICOS, W.H.; SHAH, S.V.: – *Proteinases in renal disease.* Kidney Int. 1991, 40, 161.
179. COSIO, F.G.; OROSZ, C.G.: – *Adhesion molecules and the kidney in health and disease* J. Nephrology 1993, 6, 1, 22.
180. MATSELL, D.G.; GABER, L.W.; MALIK, K.U.: – *Cytokine stimulation of prostaglandin production inhibits the proliferation of serum-stimulated mesangial cells.* Kidney Int. 1994, 45, 159.
180. MENE, P.; SIMONSON, M.S.; DUNU, M.Y.: – *Physiology of the mesangial cell.* Physiol Rev. 1989, 69, 1347.
182. VEIS, J.N.: – *An Overview of Mesangial cell Biology* in Bene Me, FAURE, G.C.; KESSLER, M. (eds.): – *IgA Nephropathy.* The 25th year Contrib. Nephrol. Basel Karger. 1993, 104, 115.
183. BAYLIS, C., MITRANA, DENG. A.: *Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage.* J. Clin. Invest., 1992, 40, 278.
184. BROWN, D.: *Vesicle trafficking and membrane polarity in epithelial cells: relationship to intercalated cell function in Kidney collecting ducts* in HATANO, M. Nephrology. Ed., Springer. Tokio, 1991,.vol. II, 965.
185. BRENCHLEY, P.E.C., SHORT, C.D., FEEHALLY, J., MALLICK, N.P.: *Towards defining antigens in human membranous nephropathy.* Nephrol. Dial. Transplant. Suppl., I, 1992, 7, Suppl 1, 21.
186. DAVISON, A.M.: *Variability of glomerular response to injury.* Nephron., 1993, 65, 5.
187. HANSCH, G,M., SCHÖNERMARK, M., WAGNER, C., SCHIEREN, G., JAHN, B.: *The terminal complement complex C_{5b}–9. A possible mediator of acute and chronic glomerulonephritis* in HATANO, M., Nephrology. Ed. Springer. Tokio, 1991, vol. II, 888.
188. RAMBAUSEK, M.H., WALDHERR, R., RITZ, E.: Immunogenetic findings in glomerulonephritis Kidney, Int., 1992, 43, Suppl., 39, 513.
189. KARET, F.E., DAVENPORT, A.P.: Endothelin and the human Kidney: a potential target for the new drugs. Nephrol. Dial Transplant, 1994, 9, 465.

IMPORTANȚA MARKERILOR IMUNOLOGICI ÎN CONTEXTUL ACTUAL AL HEPATITELOR VIRALE

Prof. dr. MIHAIL DRAGOMIRESCU
Clinica de boli infecțioase
Universitatea
de Medicină și Farmacie
Timișoara

1. SEMNIFICAȚIA ACTUALĂ A NOȚIUNII DE „MARKER IMUN" ÎN DOMENIUL HEPATITELOR VIRALE

După cercetările princeps ale lui Blumberg și col. care au dus la identificarea AgHBs ca formă circulantă esențială a VHB, diagnosticul infecțiilor cu virusuri hepatitice a trecut de la criteriile clinico-evolutive și epidemiologice (care erau grevate de o mare relativitate) la criterii virusologice și imunologice. De atunci s-au înregistrat progrese importante, care s-au materializat pe de o parte prin succedarea unor generații din ce în ce mai perfecționate de tehnologii, pe de altă parte prin ameliorarea consistentă a precizării etiologice a diferitelor tipuri de virusuri hepatitice (VHA, VHB, VHD, VHC, VHE). În felul acesta, s-au statuat, premisele delimitării cu mai mare precizie a relațiilor etioclinice, evolutive, a parametrilor diagnostici și a obiectivelor curativo-profilactice în domeniul atât de complex al hepatitelor virale.

Într-o primă etapă, noțiunea de „markeri" a avut un conținut mai restrâns: ea includea mai ales acel grup de metode care îndeplineau exigența diagnostică, deoarece acest obiectiv era profund deficitar atât pe plan virusologic cât și clinic. Treptat însă, datele moderne au acordat un conținut mult mai larg noțiunii de „marker imun", astfel încât, în accepția actuală, putem include în acest cadru, toate testele directe sau indirecte, fie că sunt de abordare clinică fie că sunt accesibile doar laboratoarelor ultraspecializate. Funcția lor s-a diversificat pe măsură ce problematica hepatitelor virale a devenit mai complexă. Se poate vorbi astfel despre:

- Funcția markerilor imuni în identificarea tipurilor de virus hepatitic (HVA, HVB și a structurilor sale antigenice, HVD-delta, HV-NANB – cu variantele sale);

• Rolul markerilor în definirea mecanismelor fiziopatologice şi imunopatogene particulare diferitelor forme etiologice;

• Utilizarea indicatorilor imuni cu rol în delimitarea distribuţiei geografice a virusurilor hepatitice, a condiţiilor socioecologice-comunitare şi implicit a opţiunilor pentru diferitele mijloace profilactice;

• Implicarea markerilor imuni în definirea contextului clinico-evolutiv şi prognostic;

• Utilizarea markerilor în vederea evaluării eficienţei diferitelor tipuri de vaccin;

• Folosirea „screening-ului" prin markeri pentru aprecierea nivelului de eficienţă a medicaţiei antivirale (inclusiv cu interferon).

Considerăm că o sistematizare a markerilor din această incidenţă, pe care nu am întâlnit-o încă în bibliografia din ţara noastră, ar putea crea o imagine practică de ansamblu asupra problemelor actuale şi de perspectivă ridicate de infecţiile cu virusuri hepatitice.

Ca orice alt capitol de patologie şi cel al hepatitelor conţine date cu caracter fundamental şi date aplicative. Astfel e bine cunoscut faptul că markerii imuni (sau de altă natură) au fost larg utilizaţi în identificarea virusurilor şi în stabilirea structurii lor (capsidă, virioni, genom, enzime şi proteine de structură etc.). Ţinând cont însă de caracterul practic al abordării, vom face referinţă mai ales la utilizarea markerilor în problemele pe care le ridică (sau le vor ridica) asistenţa bolnavilor cu diverse forme de hepatită virală.

2. ROLUL MARKERILOR IMUNI ÎN INFECŢIA CU VHA

2.1. ÎN IDENTIFICARE ŞI DIAGNOSTIC

Virusul provocator al hepatitei A a fost pus în evidenţă prin microscopie electronică, după care a fost definit sub raport structural, cultivat pe rinichi de maimuţă, celule HeLa şi celule diploide umane. Principalii indicatori de identificare a VHA în culturi celulare s-au bazat pe imunofluorescenţă, metoda radioimunologică (RIA) şi microscopia electronică.

Pentru diagnosticul clinic, se pornește însă de la premisa după care cel mai semnificativ element e reprezentat de imunitatea specifică anticorpică, fiind deci suficientă evidențierea prin metoda imunoenzimatică a Ac IgM-anti-VHA. Pentru obiective mai exigente, se recurge la investigarea anticorpilor specifici prin RIA, ținând cont că IgM apar la începutul bolii și rămân detectabili timp de 6 săptămâni până la 6 luni – deci prezența lor în ser e marker de hepatită curentă sau recentă, în vreme ce Ac IgG-anti-VHA apar la mai multe săptămâni de la debut și persistă practic indefinit. Rezultă deci că IgG specifice devin marker pentru o hepatită A anterioară și indică imunitatea la reinfecție (24).

2.2. ÎN DELIMITAREA MECANISMULUI PATOGENIC

Efectul citopatogen al VHA este bine definit; acesta a reprezentat unul din argumentele includerii (taxonomice) în familia enterovirus-urilor, deși asemănarea nu este integrală. Astfel, spre deosebire de celelalte entero-virus-uri, VHA nu induce imunitate locală (enterală), nu există dovezi privind replicarea virusului în țesutul intestinal, după cum nici că vaccinurile ar produce asemenea gen de răspuns protector (tabelul 1).

2.3. ÎN PROFILAXIE ȘI EVALUAREA METODELOR DE IMUNIZARE

Este domeniul în care markerii sunt de maximă importanță, fiind necesari atât în stabilirea premiselor epidemiologice (și a strategiei imunizării) cât și pentru evaluarea diferitelor procedee utilizate.

A. PREMISELE EPIDEMIOLOGICE

- Endemicitatea zonei geografice și condițiile de transmitere; copiii sunt sursa principală de transmitere în zonele cu endemicitate crescută, mai ales prin faptul că fac infecții subclinice în condiții deficitare de educație

Tabelul 1

Indicatorii imuni cu semnificații patogenice în infecția cu VHA (31, 33, 50)

Răspunsul imun	Interpretare
Imunitatea celulară (T) Li T-citotoxice (CD8+)	• Sunt crescute și au funcție antigen-restrictivă (ca în HVB), dar importanța lor e redusă în patogenia HVA • Având rolul de a elimina virusul, pot fi implicate parțial în leziunea celulelor hepatice (conținătoare de virus), cu funcție de „clearance" a infecției și de consolidare a imunității • Răspunsul CD8+ nu apare după vaccinul inactivat, dar apare după vaccinarea cu vaccin viu atenuat care se replică în hepatocite, stimulează producerea de CD8+ care determină o moderată leziune hepatică (creșterea ALAT).
Li T-helper (CD4+)	• Modelează răspunsul anticorpic (esențial în HVA)
Imunitatea umorală (B)	• Răspunsul anticorpic față de virus are rol de marker al anticorpilor neutralizanți circulanți, cu implicații în imunitate (inclusiv cea conferită prin vaccin inactivat) • Se delimitează 4 trepte de răspuns: Infecție>vaccin inactivat>vaccin atenuat>IG • Răspunsul IgAs specific anti-VHA e de importanță redusă: – Prin RIA (radioimunofocus inhibion assay): prezența tranzitorie a anticorpilor neutralizanți în scaun sau în produse gastroenterale nu e esențială pe plan patogenic – Prin ELISA se evidențiază la 18,5% IgA-anti-HVA, pe durată scurtă, cu epuizare la 4 luni – În salivă (prin RIA) anticorpii secretori sunt transudați din sânge

sanitară. Deci imunizarea copiilor reprezintă prima țintă strategică, deoarece prin aceasta se poate scădea incidența generală a HVA (dar mai ales în copilărie) (35).

• Reușita imunizării e o problemă multifactorială, dar elementul cel mai important e reprezentat de status-ul nivelului protector de fond al unei populații date. În genere, 80% din adulți au titru protector, dar numai 40% din copiii sub 5 ani. Rezultă deci că la adulți vor fi vizate grupele de risc (în instituțiile de asistență socială a copiilor) (Day Care Centers), în arii cu contact interuman crescut, cu schimburi intense de populații (turism, deplasări de militari) (24).

B. MARKERII UTILIZAŢI PENTRU IDENTIFICAREA SEROCONVERSIEI

În principiu, succesul imunizării se măsoară prin nivelul şi durata anticorpilor specifici, dar este necesar un grad de sensibilitate a markerilor, deoarece titrul protector se exercită şi la nivel redus (~10 mUI).

Metodele test

• Imunotestarea cuantificată a Ac neutralizanţi (testul de neutralizare Havarna etc.).

Tabelul 2

Eficienţa metodelor de imunizare evaluată prin markeri (6, 26, 27, 28, 30, 31, 35, 41, 43, 44, 48)

Procedeu	Evaluări prin markeri
IG (Imunizare pasivă)	• Prevenţia pre- şi postexpunere durează 4–6 luni. • Cantitatea de Ac. obţinută protejează faţă de VHA clinică dar nu şi faţă de infecţia subclinică. • IG se pot combina cu imunizarea activă (deşi există un grad de interferenţă negativă, care însă nu duce la nivel subprotector).
Vaccin inactivat	• Înalt imunogen; previne sigur boala aparentă dar nu elimină boala asimptomatică (la preexpunere). • Permite combinarea cu IG (la post-expunere) şi asocierea cu vaccin anti-HVB (vaccin bivalent de uz pediatric). • Vaccinul formol-inactivat (VAQTA TM produs cu tulpina atenuată CR 326–F) e eficace în doză unică la copil; cu adjuvant, seroconversia ajunge la ~100%. • Scheme diverse: doză unică, cu booster la 1–2 luni, în 3 doze (momentele 0.1.6. luni – în doze progresive – 0.1.2. luni, 0.1.12 luni). În principiu, primele 2 doze trebuie să fie urmate de un booster).
Vaccin viu atenuat	• Candidat de perspectivă, necesită adaptări ale VHA pe culturi celulare care să-i scadă virulenţa (ca în cazul vaccinului a-polio). Nu e tolerat pe cale orală (administrare s.c. sau i.m.). • Vaccinul obţinut prin 32 pasaje a tulpinei HM–175 pe celule de rinichi de maimuţă (African-green) e înalt imunogen, implică un cost mic, protecţie pe termen lung şi eliminarea booster-ului. Conferă bună imunitate la grupele cu risc (copii, personal din instituţii de asistenţă, consumatori de droguri, colectivităţi cu contact interuman crescut, călători în ţări cu endemicitate crescută, unităţi militare).
Procedee de perspectivă	• Vaccin bazat pe ADN-recombinant (obţinerea de mutaţii prin tehnologia recombinării); implică avantajul administrării unei singure doze şi permite asocieri parenterale cu vaccinurile a-rujeolic, a-urlian, a-rubeolic. • Vaccin preparat din subunităţi proteice imunogene de capsidă, exprimate recombinant pe E. Coli şi recunoscute prin imunoblot; anticipează avantajul unui răspuns protector mai rapid.

- Teste RIA (radioimunoprecipitare, radioimmunofocus assay).
- Determinarea Ac IgM-anti-VHA.
- Cercetarea răspunsului anticorpic față de proteinele exprimate de regiunea P2 și P3 a genomului celulei infectate (la vaccinul viu atenuat; nu e prezent la vaccinarea cu vaccin inactivat) (31).
- Recunoașterea prin imunoblot a proteinei VP1 (la vaccinuri preparate din subunități proteice imunogene de capsidă ale virusului).

S-au mai propus:

- Cercetarea anti-VHA în salivă prin RIA, ca screening pentru profilaxia cu IG umane (41).
- Cercetarea anti-VHA prin recoltare pe hârtie din deget cu lanteța, uscare, incubare în tampon fosfat, eluție: se evită venepuncția la o eficiență similară cu testarea în sânge (1).

3. MARKERI IMUNOLOGICI ÎN INFECȚIA CU VHB

3.1. STRUCTURA VIRUSULUI HEPATITIC B (23, 33)

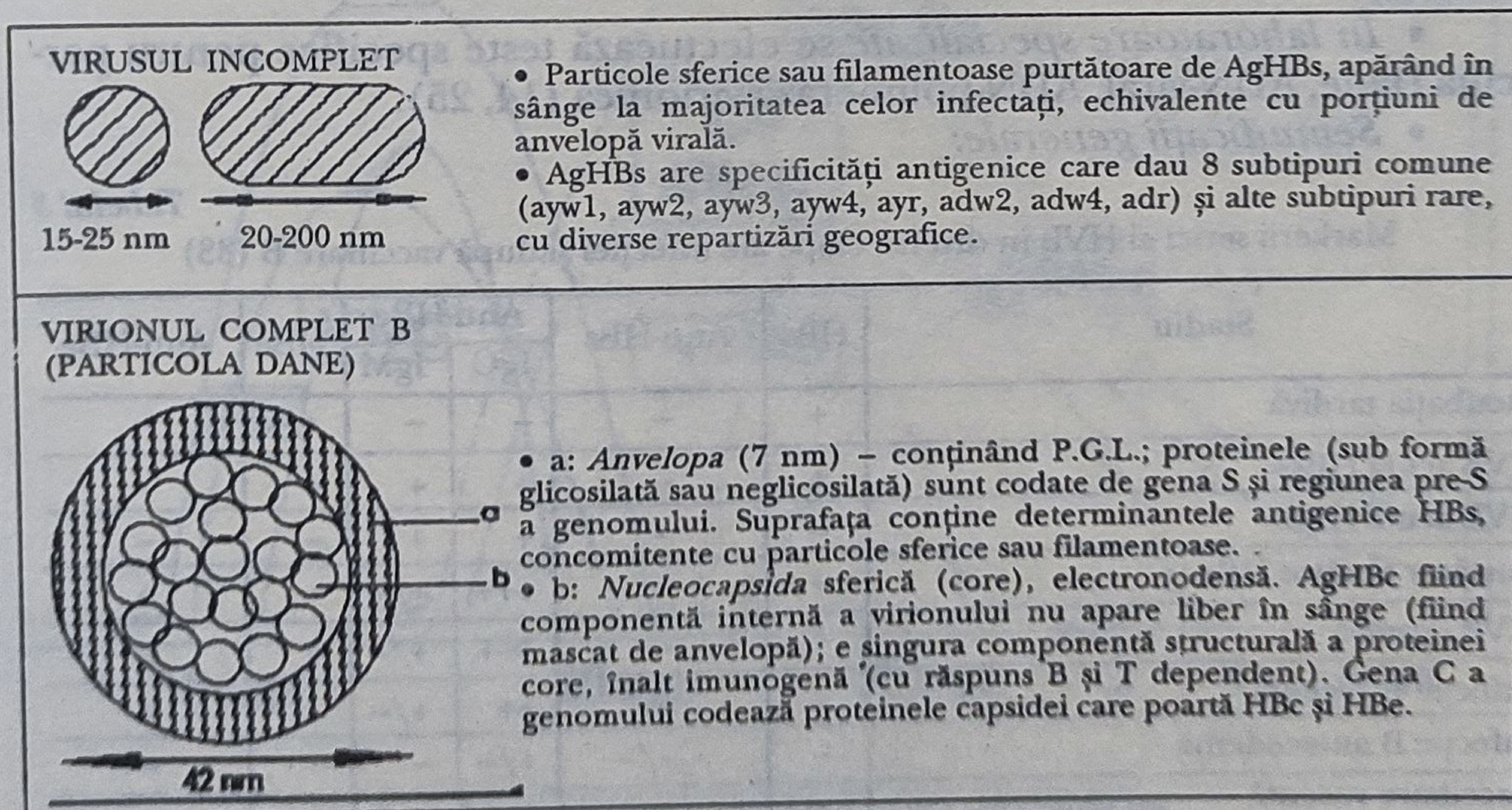


Fig. 1. – Elementele structurale ale VHB.

Îndepărtarea anvelopei virionului prin tratare cu detergenți nonionici

↓

PARTICOLA CORE LIBERA

28 nm

- **Conține extern AgHBc, intern ADN-ul și activitățile enzimatice: ADN polimeraza și proteinkinaza.**
- **HBc conține un singur polipeptid (19.000 Da) cu secvență conservată a AA, fosforilare de proteinkinază. În țesutul hepatic HBc nou sintetizat e transportat după asamblare (în mare măsură) în nucleu.**
- **Răspunsul imun anti-HBc joacă rol decisiv în eliminarea virusului.**

Efect puternic detergent

↓

ADN **AgHBe**

- **ADN-ul viral circular dublu catenar (25–60% monocatenar); ADN-polimeraza reface porțiunea monocatenară pentru a se construi molecula integrală (3200 perechi de baze). A fost clonat pe celule bacteriene, fiind cunoscută secvența în nucleotide.**
- **AgHBe apare în sânge ca Ag solubil legat de Ig fiind un polipeptid de clivaj al „core" de 17000 Da. E produs de hepatocite în timpul infecției. Tranziția HBe→Anti-HBe e deseori asociată cu eliminarea virusului.**

Fig. 1. – Elementele structurale ale VHB (continuare).

3.2. MARKERI DE IDENTIFICARE ȘI DIAGNOSTIC

- *Curent* se utilizează testarea imunoenzimatică pentru AgHBs, Anti-HBs, Anti-HBc, IgM-Anti-HBc, AgHBe, Anti-HBe (ELISA, metode comercializate).
- *În laboratoare specializate* se efectuează teste specifice pentru particula Dane, ADN-viral, ADN-polimerază virionică (14, 25).
- *Semnificații generale:*

Tabelul 3

Markerii serici ai HVB în diverse etape ale infecției și după vaccinare B (33)

Stadiu	HBs	Anti-HBs	Anti-HBc		HBe	Anti-HBe
			IgG	IgM		
Incubația tardivă	+	–	–	–	+/–	–
HVB acută HBs+	+	–	+	+	+	–
HVB acută HBS–	–	–	+	+	–	–
Purtător sănătos HBs	+	–	+++	+/–	–	+
HVB cronică	+	–	+++	+/–	+	–
Infecție B recentă	–	++	++	+/–	–	+
Infecție B antecedentă	–	+/–	+/–	–	–	–
Vaccinare recentă	–	++	–	–	–	–

3.3. INTERPRETĂRI CLINICO-EVOLUTIVE BAZATE PE DINAMICA MARKERILOR (12, 33, 37, 39, 53)

a) Dinamica markerilor în infecția primară, medie, autolimitată.

b) Dinamica markerilor în infecția autolimitată fără AgHBs detectabil în ser.

c) Dinamica markerilor în infecția persistentă HBs.

d) Dinamica markerilor în infecția persistentă fără AgHBs detectabil.

e) Particularizări în funcție de asocierea markerilor.

f) Markerii în infecția cu evoluție spre carcinom hepatocelular.

g) Markerii în HVB asociată cu infecția cu HIV.

a) **Dinamica markerilor în infecția primară, medie, autolimitată (75–85% din cazuri)**

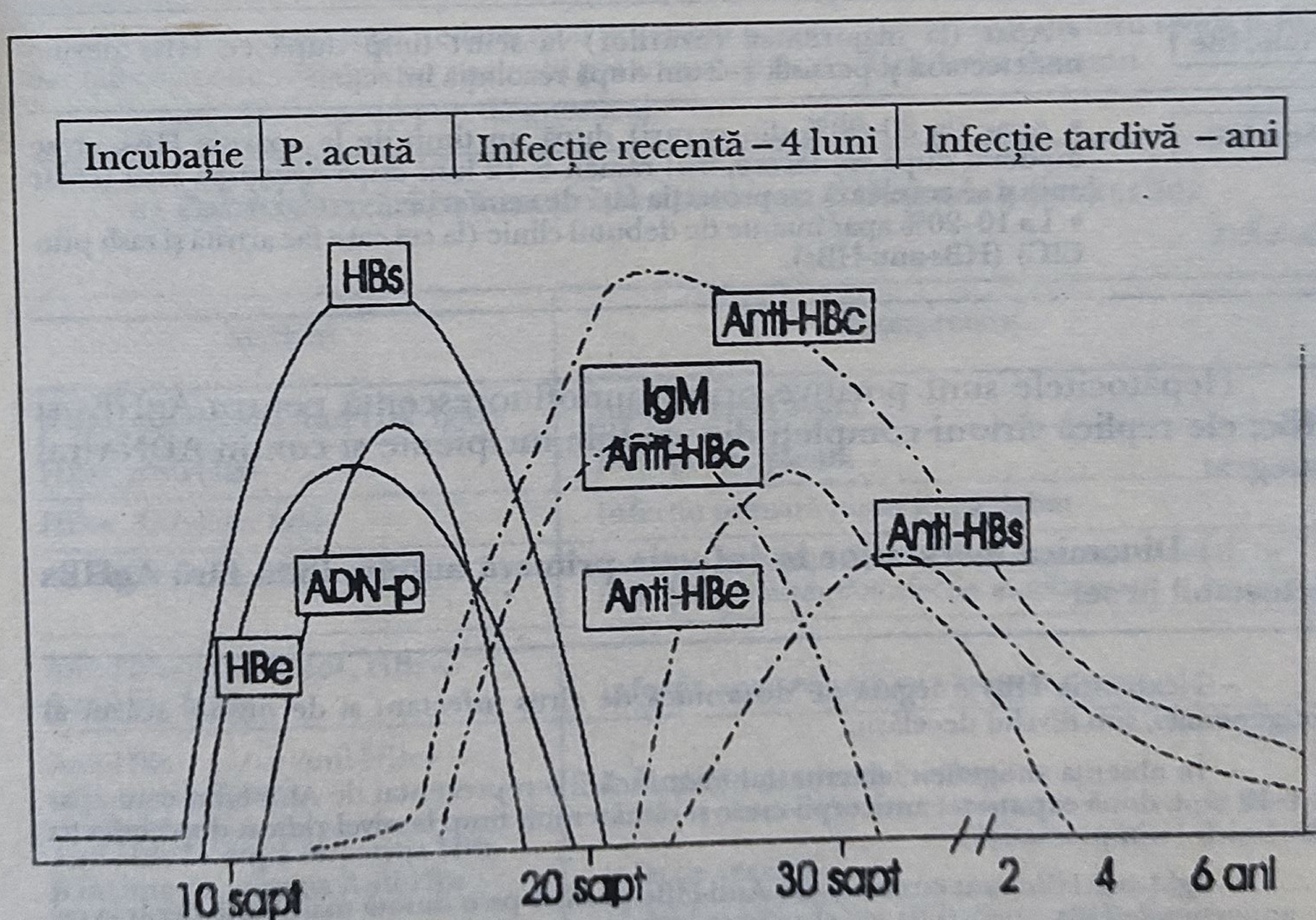


Fig. 2. – Markerii în evoluția HVB acute, autolimitate.

HBs	• E primul marker care apare în ser, prezenţa sa fiind sinonimă cu infecţia acută (activă), sau e vorba de exacerbarea unei H Cron. B. • Se decelează cel mai devreme la 1–2 săpt. şi cel mai târziu la 11–12 săpt. • După infecţie poate rămâne detectabil la nivel redus (prin fixarea complementului 1–6 săpt.) (rareori poate persista 20 săpt.). • Cei ce sunt +< 7 săpt. fac rareori manifestări evidente de hepatită. • Severitatea se corelează (relativ) cu durata +HBs; devine nedetectabil (negativare) cu puţin înainte sau la câteva săptămâni după rezoluţie.
HBe	• E marker precoce; la teste foarte sensibile (RIA, hemaglutinare pasivă) apare aproape simultan cu HBs, atinge un nivel maxim, apoi scade paralel cu HBs (constant la 10 săptămâni după debutul simptomelor). • HBe+>10 săpt. se corelează cu infecţia persistentă.
ADN-p	• ADN-polimeraza (virionică), ADN, partic Dane, hibridare prin ADN viral: se decelează puţin după apariţia HBs, creşte la sfârşitul incubaţiei şi scade după debutul bolii clinice.
Anti-HBc	• Apar la 3–5 săpt. după HBs (înainte de debutul clinic) şi scad după ce HBs devine nedetectabil. • Există o relaţie între titrul crescut al anti-HBc şi perioada HBs+. IgM anti-HBc scad în convalescenţa precoce.
Anti-HBe	• Apar (la majoritatea cazurilor) la scurt timp după ce HBe devine nedetectabil şi persistă 1–2 ani după rezoluţia infecţiei.
Anti-HBs	• Apar (la 80–90% din cazuri) după un timp de la apariţie HBs, cresc moderat după vindecare, mai rămân 6–12 luni după dispariţia HBs (chiar ani) şi se corelează cu protecţia faţă de reinfecţie. • La 10–20% apar înainte de debutul clinic (la cei care fac artrită şi rash prin CIC) (HBs-anti-HBs).

Hepatocitele sunt pozitive prin imunofluorescenţă pentru AgHBs şi HBc; ele replică virioni compleţi din stadiile incipiente şi conţin ADN-viral integrat.

b) Dinamica markerilor în infecţia primară autolimitată fără AgHBs detectabil în ser

– Neapariţia HBs e legată de doza mică de virus infectant şi de nivelul scăzut al antigenemiei, sub nivelul decelării.

– În absenţa antigenemiei, criteriul identificării e reprezentat de Anti-HBs, care apar la 4–12 săpt. după expunere; anticorpii cresc şi rămân mult timp la nivel ridicat după infecţia subclinică (asimptomatică).

– IgM-anti HBc sunt curent+, dar Anti-HBc persistă pe o durată mai scurtă decât la cei cu antigenemie HBs.

– Se notează o creştere moderată şi tranzitorie a ALAT.

c) Dinamica markerilor în infecția persistentă HBs

– HBs are o dinamică paralelă cu ADN-p și cu anti-HBc, dar un mare număr de bolnavi care produc HBs nu produc cantități detectabile de VHB infecțios.

– Anti-HBs se decelează constant în complexe cu HBs mai ales la pacienți cu manifestări extrahepatice (periarterită nodoasă, GNA-membranoasă), la bolnavi cu boală cronică de ficat sau la purtători sănătoși (demonstrând încă o dată rolul scăzut al CI în patogenia hepatitei). Răspunsul anti-HBs e scăzut și dificil de detectat datorită excesului de Ag.

– De mare ajutor ar fi detectarea virionilor (part. Dane) prin microscopie electronică, ADN-p, ADN-virionic în sânge, AgHBc, care prin teste sensibile decelează >50% din cazuri (ADN-p) dar testarea e greu accesibilă; ADN-p + HBe=mare contagiozitate.

– Toți cei cu ADN-virionic polimerază în ser au HBc detectabil prin imunofluorescență pe biopsia hepatică.

– Titrul de anti-HBc>decât în infecția autolimitată (mai ales IgM).

– Cei ce rămân HBs+>20 săpt. după infecția primară rămân în genere + indefinit (purtători cronici HBs).

d) Dinamica markerilor în infecția persistentă fără AgHBs detectabil (HBs–)

– HBs este ori total nedetectabil în ser sau pasager, intermitent, în titru redus la RIA, dar infecția continuă activ iar pacienții pot transmite boala dacă devin donatori.

– anti-HBc crescuți pun diagnosticul.

e) Particularizări în funcție de asocierea și dinamica markerilor

Tabelul 4

Markeri	Interpretare
HBs+, Anti-HBc+, Anti-HBc IgM+	Infecție HVB acută
HBs+, Anti-HBc–	Infecție incipientă
HBs+, Anti-HBc IgM+	Infecție primară puțin după debut
Anti-Hbc++, Anti-HBc IgM–	Infecție persistentă; anti HBc sunt mai crescuți în infecția persistentă>infecția autolimitată
Anti-HBs+, Anti-HBc+, HBs–, Anti-HBc IgM–	Infecție antecedentă cu câștigarea imunității
Anti-HBs+, (+/–) Anti-HBc+ (în titruri scăzute)	Infecție antecedentă (veche)
Anti-HBc++ după dispariția HBs și înainte de apariția Anti-HBs	Infecție recentă
Anti-HBc+ (singur)	Unicul marker la cei 10% care după infecția autolimitată nu dezvoltă Anti-HBs detectabili; Anti-HBc++ indică potențial infecțios.

Tabelul 4 (continuare)

Markeri	Interpretare
Anti-HBc++, HBs nedetectabil	Infecția poate fi transmisă; sângele provine de la infectați persistent sau de la infecție autolimitată cu AgHBs în titru prea scăzut pentru detectare
Anti-HBs+, Anti-HBc–, HBs–	Infecție antecedentă sau vaccinare B
Anti-HBs scăzut la nevaccinați	Infecție în trecutul îndepărtat la care Anti-HBc a scăzut sub nivelul detecției
Anti-HBs crescut singur sau cu Anti-HBc+	Răspuns Anti-HBs secundar după expunere la virus (produse de sânge, vaccin B) dar fără reinfecție; când Anti-HBs e decelabil sângele transmite rareori infecția
HBs scăzut în teste seriate	Infecție acută rezolutivă

f) Markeri în infecția cu evoluție spre carcinom hepatocelular (7, 33)

• CHC se înregistrează cel mai frecvent în zonele în care există cea mai mare persistență a infecției cu VHB (procentul fiind de sute de ori mai mare la HBs+>HBs–); deci prima predispoziție e reprezentată de persistența infecției cu VHB.

• Relația patogenică la nivel molecular nu e cunoscută, dar se pot deduce următoarele:

– Markerii specifici ai HVB prezenți la mamele viitorilor bolnavi cu CHC demonstrează nu numai importanța transmiterii verticale dar și faptul că infecția timpurie conduce la persistența infecției cu implicații în incidența crescută a cancerului la vârsta adultă.

– Integrarea ADN-VHB: ADN-ul celulelor canceroase evidențiază segmente mari din genomul viral în ADN-ul tumoral (85–90%); nu s-au identificat CHC în care să existe numai virus liber neintegrat (în gena „hap", pe cromosomul 17p aproape de gena protooncogenului uman p53, gena X etc.).

Există două explicații privind mecanismul prin care integrarea ADN-VHB în cromosomi declanșează cancerul:

– virusul conține o genă cancerigenă;

– ADN-ul integrat activează o genă potențial oncogenă (de pildă supraexpresia genei „hap").

g) Markerii în HVB asociată cu infecția cu HIV trebuiesc interpretați în funcție de următoarele coordonate (ținând cont de căile similare de transmitere) (12, 33):

– Asocierea HB cu infecția HIV poate produce reactivare sau reinfecția cu VHB, producându-se un nou ciclu de replicare VHB;

– Dacă infecția cu HIV1 precede infecția cu VHB, riscul de purtător B crește de 3 ori;

– În hepatita cronică B, infecția cu HIV duce la replicarea crescută a VHB (cu diminuarea inflamației-leziunii prin răspunsul imunologic scăzut);

– Infecția HIV+vaccinul B→diminuarea răspunsului protector;

– Infecția HIV+infecție cu VHB→reactivare tardivă a infecției B cu scăderea detectării Ac anti-VHB;

– HIV – infectații au predispoziție de a deveni HB-purtători fără manifestări clinice și enzimatice (prin alterarea Li T helper și citotoxic);

– HIV seropozitivi la nevaccinați B→risc mediu de portaj; la vaccinați B→risc crescut de portaj. Deci vaccinul anti B e slab eficace la HIV1+.

3.4. INDICATORII IMUNI ȘI PATOGENIA HEPATITEI B:(19, 20, 33, 53)

Mecanismul patogenic al HVB nu este încă elucidat, inclusiv cel al hepatonecrozei. Se ridică următoarele întrebări:

– De ce infecția primară poate avea o gamă atât de largă de exprimare, de la boală hepatică inaparentă, la boală ușoară, acută sau fulminantă?

– De ce infecția inaparentă poate prezenta ficat histologic normal (sau quasinormal), cu funcție hepatică normală și cu evoluție posibilă spre HCP sau HCA și ciroză?

– Ce mecanism produce leziunea hepatică?

Singurele elemente orientative dovedite sunt:

• Doza mare infectantă de virus duce la scurtarea perioadei de incubație și la o evoluție mai severă,

• Evoluția bolii e mai ușoară la persoanele cu răspuns imun mai slab și invers.

Rezultă deci că patogenia trebuie identificată fie în relația virus-organism (celule hepatice), fie în răspunsul imunopatologic.

A. **Rolul virusului** (care nu are efect direct citopatic).

• ADN-ul viral (ADN-HVB): prezența lui permite de a afirma că există particole virale și că se produce replicare virală în ficat (hibridotestul cu trasor radioactiv), dar nu explică extinderea leziunii hepatice.

• Corpusculii Dane+AgHBe în timpul infecției acute sau persistente permit identificarea pacienților probabili transmițători ai infecției (de la purtători, de la gravide purtătoare la noi-născuți, de la personalul medical (stomatologi) la pacienți, prin contact sexual), dar nu explică mecanismul patogenic.

• AgHBc e o componentă internă a virionului atât la bolnavii acuți cât și la cei cronici și la purtătorii cu titruri ridicate. Dacă AcHBc sunt IgM, aceștia

indică o replicare rapidă a virusului. Epitopii HBc sunt înalt imunogeni (> decât cei ai HBe), dar HBc nu poate fi implicat direct în patogenie.

• AgHBe: date recente arată existența unor variante ale VHB lipsite de determinanți genetici ai HBe: la 27% din purtătorii imunotoleranți și la 17% din purtătorii cu infecție latentă; deci nici HBe nu poate fi incriminat ca factor producător de leziune.

B. Rolul mecanismului imunopatologic

• Atât în hepatita acută cât și în cea cronică există constant răspuns imun față de AgHBc și frecvent față de AgHBs; în hepatita cronică și față de HBe.

• Răspunsul umoral (B) față de antigenele VHB apare în hepatita cronică B. Totuși un rol patogenic (în leziunea hepatică) al răspunsului B-dependent (anticorpic) se exclude, deoarece formele acute și cronice ale HVB pot apare și în absența unui răspuns important umoral (inclusiv în hipogamaglobulinemie), și chiar în cazuri cu evoluție severă.

• Răspunsul celular (T) față de HBs sau/și față de antigenele celulei hepatice a fost confirmat în numeroase investigații. Răspunsul T-dependent la AgHBs a fost detectat (prin testul de inhibiție a migrării și de transformare blastică IM, TB) în hepatita cu VHB. Între testele de citotoxicitate limfocitară asupra celulelor purtătoare de AgHBs, acestea sunt cele mai veridice, dar testul optim de imunopatogeneză celulară a infecției cu VHB nu s-a elaborat încă. Nivelul LiT-citotoxice nu se corelează strict cu gradul citopatiei, de unde s-a căutat gradul de implicare al altor subpopulații. S-a arătat astfel că populația NK mediază citotoxicitatea față de un component al membranei lipoproteice specifice (LSP) al hepatocitului. Sensibilizarea celulară (T sau non-T) la antigenele gazdei a fost demonstrată de numeroși autori la aproximativ 50 din bolnavii cu hepatită acută B și la un procent variabil în hepatita B cronică, dar nu s-a semnalat în hepatitele non-B. În genere, creșterea activității citotoxice evoluează paralel cu diminuarea activității T-supresoare, la majoritatea bolnavilor cu hepatită acută și cronică B. În generarea sensibilizării celulare intervin probabil (în calitate de antigene): HBc, HBe și ADN-polimeraza.

Un argument important în favoarea rolului sensibilizant al unor structuri antigenice virale e reprezentat de diferențele existente între bolnavii cu hepatita B confirmată față de purtătorii sănătoși fără leziuni bioptice hepatice evidente; astfel:

– în hepatita cronică B găsim: AgHBe și ADN-virion polimerază în ser, AgHBc și HBs în ficat (prin imunofluorescență);

– la purtătorii sănătoși: HBe–, ADN-virion polimerază-, anti-HBe+, HBs+. Se sugerează deci că ținta celulelor citotoxice (care devin markeri imuni) ar fi, în ordine: HBc>HBe>HBs.

Complexele imune circulante se obiectivează ca marker indirect: după formarea lor se depun în țesuturile cu flux sanguin crescut și cu endotelii fenestrate, legându-se și cu celulele care au receptori Fc și C3 (macrofage, Li B, PMN). Consecințele clinice sunt variabile și dependente (probabil) de gene ale virusului: în perioada acută joacă rol în apariția erupțiilor și a manifestărilor articulare – în stadiul preicteric – în hepatitele cronice fac depozitări variabile în funcție de capacitatea gazdei de eliminare. În ambele alternative sunt markeri cu semnificație etiopatogenică.

Funcția de markeri imuni ai populațiilor limfocitare și a CIC a fost evidențiată și în investigațiile noastre (18, 19, 20, 38).

3.5. EVALUAREA PRIN MARKERI A MIJLOACELOR PROFILACTICE ȘI TERAPEUTICE (5, 34, 47, 54)

Tabelul 5

Corticosteroizii	• creștere rapidă și constantă a ADN-virionpolimerazei, • creșterea titrului HBs (sau pozitivare la negativi), • cei cu anti-HBc și anti-HBs devin HBs+ prin supresie imunitară, • oprirea corticoterapiei e urmată de scăderea titrului HBs și a activității ADN v.p. (Deci corticoizii au efect stimulant asupra replicării virale).
Interferonul și adeninarabinozidul	• inhibă replicarea VHB la bolnavii cu infecție persistentă cu reducere rapidă a nivelului virionilor în ser, • reducerea (parțială și graduală) a HBs, • ADN-VHB e markerul cel mai important, deoarece agenții antivirali acționează mai mult (și primar) în etapa producției virionilor și mai puțin în cea a formării particolei HBs; (s-au descris și cazuri cu dispariția tuturor markerilor).
Imunizarea pasivă peexpunere (cu gamaglobuline serice hiperimune sau standard)	• titru ridicat anti HBs (dar o dată cu apariția vaccinului rămân puține indicații: persoane ce nu răspund la vaccin, cu hipogamaglobulinemie, cu contact repetat, hemodializați).

Tabelul 5 (continuare)

Imunizare activă pre-expunere cu vaccin anti B	• seroconversie anti HBs 80–90% (mai puţin la vârste extreme, obezitate, imunodeficitari, subnutriţi, consum de toxice); titrul e proporţional cu persistenţa anticorpilor; • se indică testarea prin markeri pentru infecţia trecută imunizantă (anti HBc) pentru a se evita o imunizare inutilă; • absenţa seroconversiei la vaccin indică receptivitate şi necesită gamaglobuline standard; • revaccinarea celor fără conversie la cele 3 doze (imunizare primară), produce răspuns anticorpic la >50% dar cu persistenţă mai redusă.
Imunizarea postex-punere cu gamaglo-buline serice cu titru ridicat de anti-HBs	• administrarea rapidă (la 4 ore după inocularea experimentală cu VHB) reduce markerii (şi incidenţa) dar nu elimină integral riscul. În practică se obţine protecţie la administrarea primei doze la 7 zile de la expunere (dar se constată protecţie şi după săptămâni); e clar că eficienţa e proporţională cu precocitatea administrării.
Imunizarea postex-punere la nou-năs-cuţi din mame HBs+	• e o problemă importantă şi necesită utilizarea markerilor, deoarece mamele HBs+ transmit frecvent virusul iar 90% din noii-născuţi infectaţi devin purtători cronici; • administrarea rapidă de doze mari de gamaglobuline hiperimune după naştere la nou-născuţi din mame HBe+ reduce riscul cu 70–80%; dacă prima doză se administrează după 48 ore protecţia e slabă; • administrarea concomitentă de gamaglobuline hiperimune cu vaccin în perioada perinatală conferă protecţie în procent de 96%; metoda: 0,5 ml GGH în sala de naştere şi 0,5 ml vaccin (Hepatovax B, Recombinax HB) i.m. în prima săptămână după naştere. A 2-a şi a 3-a doză de vaccin se administrează la 1 şi 6 luni.

4. ROLUL MARKERILOR ÎN INFECŢIA CU VHD (DELTA)

- **În identificarea şi caracterizarea virusului** (8, 33)

Sistemul Delta a fost pus în evidenţă prin imunofluorescenţă în nucleii hepatocitelor şi în serul purtătorilor de AgHBs cu boală cronică de ficat de către Rizzeto şi col., în 1977. S-a crezut iniţial că e o variantă a VHB, apoi s-a adus dovada că e un virus defectiv, prezent exclusiv la persoane infectate cu VHB, având nevoie de efectul helper al VB pentru replicare.

VHD e o particulă sferică de 35–37 nm; conține un singur antigen (AgHBD) proteic, înconjurat de structurile VHB. E cel mai mic din genomele virale cunoscute la virusurile ARN. Nucleoproteina de 68.000 Da conține ARN-ul viral care a fost clonat și secvențializat (Bergman). Proteina antigenică e compusă din 214 AA și e probabil că unele peptide sintetice ar fi utile în imunizare. Deși există variante genetice ale virusului (cu un grad de variabilitate în răspunsul imun al gazdei), serurile recunosc un număr constant de peptide (10–15 acționează cu Ag HBD în ELISA, imunoprecipitare și imunobloting).

Infecțiozitatea sângelui e foarte ridicată; bolnavul e infecțios cât persistă AgVHD. Receptivii sunt cei infectați cu VHB. Transmiterea e predominant parenterală și sexuală fiind posibilă și cea verticală (mamă-făt). Contactul strâns intrafamilial în condiții igienico-sanitare deficitare favorizează difuzarea (inclusiv cea inaparentă, pe cale percutanată, permucoasă).

Imunitatea se obține după trecerea prin infecția cu VHB și vindecare, cu titru protector de anti-HBs sau prin vaccinare anti-B.

- **Markeri ai infecției cu VHD** (4, 51)

– Imunochistochimic: evidențierea AgD intrahepatic cu Ac anti-D marcați cu fluorcromi;

– Metode radioimune, radioenzimatice, imunoenzimatice; depistarea anti-D de tip IgM, persistă în infecția cronică sau glisează către IgG anti-D (Ac anti-VHD se corelează cu infecția D, dar rolul lor în imunitate e neclar);

– Evidențierea ARN-VHD în ser (prin hibridare moleculară), e sensibilă chiar la nivele scăzute ale AgVHD în ser; e marker direct al replicării VHD. Nu toți bolnavii cu AgVHD în ficat sunt pozitivi pentru ARN-VHD în ser.

- **Markerii și patogenia** (33, 51)

– Efectul citopatic al VHD e direct proporțional cu exprimarea AgVHD și cu creșterile (ondulante) ale ALAT (experimental la cimpanzei); se adaugă deci un efect citopatic în infecție, pe care VHB nu-l exercită singur;

– Mecanismul imunopatogen pare incert, deoarece există antigenemie pe termen lung VHD la imunodeficitari chiar cu leziuni hepatice, dar și cazuri cu seroconversie IgM și IgG la aceeași categorie. Imunodeficitul favorizează replicarea virusului care exercită esențial efect citopatogen.

– Nu s-a stabilit rolul VHD în cancerul primitiv (deși s-au găsit la acești bolnavi Ac anti-D+)

- **Markerii în relația VHB-VHD** (23, 45)

– Relația VHB-VHD are multe necunoscute. În timpul infecției D se produce o descreștere a VHB (markeri), o scădere a replicării VB; deci VHD ar avea rol distructiv (consomptiv) față de VHB prin competiția pentru material genetic (?).

– Coinfecţia este infectarea simultană VHB-VHD; se manifestă ca o hepatită acută virală de tip B cu evoluţie bi- sau multifazică a ALAT. Virusul D nu e prea agresiv deoarece replicarea sa e limitată de antigenemia B. Nu apar cronicizări, eliminarea VHB e paralelă cu eliminarea VHD şi cu apariţia de anticorpi anti-D. Într-un mic procent s-au notat însă şi evoluţii severe.

– Suprainfecţia: infecţia acută cu VHD se grefează pe un portaj cronic de VHB; în această alternativă evoluţia e severă, ajungându-se în scurt timp la hepatită cronică activă sau ciroză sau chiar hepatită fulminantă (comatoasă). Aşadar hepatita cronică B cu titru crescut de anticorpi anti-D devine o entitate clinică bine individualizată. În principiu, peste 20% din pacienţii cu istoric de infecţie cu VHD de 6 luni–3 ani sunt pozitivi (la nivel hepatocelular) pentru Ag VHD evoluând clinic sau subclinic.

Persistenţa IgM anti-HBc indică replicarea VHB şi e implicată în producerea hepatitei B cronice. Prin analogie se poate presupune că persistenţa IgM anti-VHD e marker al replicării HVD, deoarece există o corelaţie strânsă între leziunea hepatică şi marker.

5. APORTUL MARKERILOR ÎN INFECŢIA CU VHC ŞI VHE

5.1. VIRUSURILE NANB (11, 32, 52)

Tabelul 6

VHC~80%	• transmitere esenţial parenterală (mai ales transfuzională), • clinic: incubaţia 5–12 săpt. (la 80–90%), formele anicterice şi asimptomatice sunt frecvente), creştere moderată a ALAT (3–50 ori), bilirubinei (5–7 ori); • biopsie de hepatită virală acută, • risc major de evoluţie cronică, cirogenă (18–20% după 15 ani), • virus recent identificat cu genom secvenţializat, • testul serologic se bazează pe evidenţierea anticorpilor dirijaţi faţă de proteine virale.
VHE~20%	• tipul epidemic al hepatitei NANB cu transmitere fecal-orală, în zone subdezvoltate, • seamănă cu hepatita A (VHA) prin mod de contaminare, absenţa cronicizării, dar e posibilă evoluţia severă chiar fulminantă, fiind cauză de mortalitate (mai ales la gravide); în ţările dezvoltate apare sporadic, • a fost identificat (1988–89) şi definit structural: ARN-ul conţine 8500 nucleotide-genomul a fost secvenţializat, • e prezent în scaunul şi bila bolnavilor, • are proprietăţile Calicivirus-urilor.

5.2. STRUCTURA VHC; MARKERI DE STRUCTURĂ (9, 32)

– Nu există încă o prezentare electronooptică a virusului;

– Anvelopa lipidică a fost identificată prin sensibilitatea la cloroform;

– Genomul viral a fost identificat prin procedee de biologie moleculară (la CDC-Atlanta): material biologic îmbogățit în particule virale (prin treceri pacient-cimpanzeu) a fost ultracentrifugat și concentrat; s-au extras acizii nucleici, supuși acțiunii reverstranscriptazei pentru a se obține molecule de ADNc (complementare) apoi se clonează (cu bacteriofag lambda GT11 și E. Coli); se sintetizează polipeptidele corespunzătoare secvențelor nucleotidice. Se aplică apoi sonde de hibridare și se ajunge în final la secvențializarea completă a genomului viral.

E constituit din ARN monocatenar cu polaritate+, cuprinde ~10.000 nucleotide 50–60 nm, e înconjurat de anvelopă (total ~80 nm); apartenență la Flavivirus.

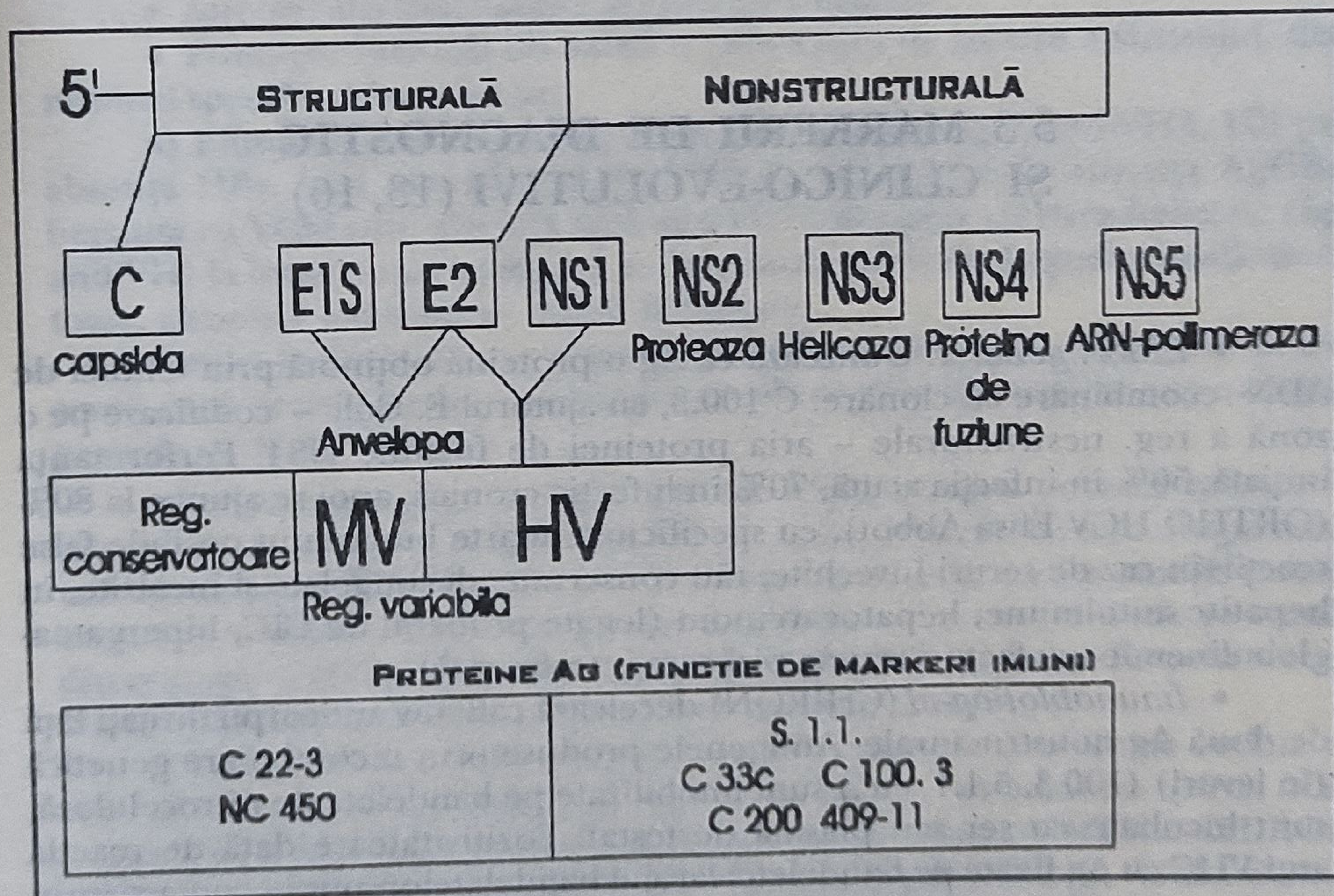


Fig. 3. – Structura genomului VHC.

Genomul are două regiuni: gene de structură şi gene nestructurale:

• Reg. *structurală* 4 situată în regiunea 5', cu rol de codare pentru o proteină de înveliş (de membrană), pentru glicoproteinele de anvelopă E1, E2 şi pentru nucleocapsidă (asociată ARN-ului).

• Reg. *nestructurală,* cu rol în producerea unei serii de proteine nonstructurale: NS1, NS2, NS3, NS4, NS5, are implicaţii în replicarea virusului dar cu funcţii puţin cunoscute (NS2=protează, NS3=helicază şi protează, NS4 cu rol în fixarea membranelor celulare, NS5=ARN – polimerază).

La nivel reg. structurale se află o reg. conservatoare şi una variabilă.

La capătul 5' terminal al reg. structurale e o zonă numită NCR (noncoding region) importantă ca suport al markerilor de diagnostic. Reg. variabilă conţine: MV (moderat variabilă) şi HV (hipervariabilă), ultima stând la baza mutaţiilor la persoane infectate cronic.

Există subtipuri de VHC (mutante), deduse prin seruri negative cu C 100.3; şi alte rezultate pledează pentru existenţa de mutante, explicând reacţiile negative cu testele ELISA de generaţia I-a.

5.3. MARKERII DE DIAGNOSTIC ŞI CLINICO-EVOLUTIVI (13, 16)

• *ELISA gener 1.* Utilizează ca Ag o proteină obţinută prin tehnici de ADN-recombinare cu clonare: C 100.3, cu ajutorul E. Coli – codificare pe o zonă a reg. nestructurale – aria proteinei de fuziune NS4. Performanţa iniţială: 50% în infecţia acută, 70% în infecţia cronică, apoi se ajunge la 80% (ORTHO HCV Elisa Abbot), cu specificitate foarte bună; sunt posibile false reacţii+în caz de seruri învechite, rău conservate, decongelate şi încălzite, în hepatite autoimune, hepatocarcinom (legate probabil de CIC, hipergamaglobulinemie sau factori reumatoizi care interferează).

• *Imunobloting-ul* (CHIRON) decelează calitativ anticorpii dirijaţi faţă de două Ag nonstructurale. Antigenele produse prin recombinare genetică (în levuri) (100.3, 5.1.1. etc.) sunt imobilizate pe bandelete de nitroceluloză, sunt incubate cu ser sau plasmă de testat. Pozitivitatea e dată de reacţia anti-VHC cu Ag fixate pe bandelete: lavajul bandeletelor, pus în contact (prin incubare), cu IgG antiumane conjugate cu peroxidază şi revelare cu soluţie

de 4 cloro-naftol, dă o intensitate a bandei proporțională cu cantitatea de anticorpi specifici.

• *ELISA gener 2.* Permite punerea în evidență a anticorpilor dirijați și față de alte proteine decât 100.3., care sunt fabricate pornind de la clona corespunzătoare altor regiuni structurale sau nonstructurale. Elisa-ORTHO cuprinde prot. C 100.3., C 200 și C 22.3; MONOLISA-PASTEUR-DIAGNOSTIC cuprinde 409–1–1 și NC 450, Elisa-Abbot cuprinde C 100.3, C 33c și C 22–3. Toate sunt sensibile și se pozitivează precoce dar implică unele dificultăți tehnice. Gener. a 2-a scurtat fereastra serologică, detectarea anticorpilor fiind posibilă din săpt. 3–12 după infecție (RIBA).

Diversitatea testelor serologice se datorează secvenței diverse nucleotidice a VHC. Astfel prin tehnica PCR s-au evidențiat diferite subdiviziuni în reg. core, NS3 etc., explicându-se astfel insuficiența screening-ului cu C 100.3. Metoda de amplificare genetică (PCR) e capabilă să detecteze cantități mici de ARN viral, fiind specifică și sensibilă.

Antigenele virale hepatice se pot pune în evidență prin imunofluorescență (pentru AgVHC) în ficatul de om și de cimpanzeu în hepatitele acute sau cronice. În hepatita acută Ag intrahepatic precede creșterea ALAT și seroconversia anti-VHC și se corelează cu replicarea virală.

• *Interpretări diagnostice și clinico-evolutive*

– Principii: întrucât nu există o procedură de izolare a virusului, diagnosticul specific se bazează pe:

a) Eliminarea altor etiologii: HA prin absența IgM anti-VHA, HB prin absența HBs, IgM anti-HBc, ADN-VHB în ser (chiar în absența AgHBs), hepatita cu VCM prin absența IgM anti-VCM, hepatita cu virus herpetic (IgM anti-VH) la imunocompromiși și, a altor cauze nevirale: hepatite medicamentoase, alcoolice autoimune, ciroze biliare etc.

Totuși formele oligo- și asimptomatice se diagnostichează rar în faza acută după acest criteriu; o orientare empirică privind cronicizarea e dată de persistența ALAT>6 luni.

b) Cercetarea Ac dirijați față de VHC; pentru aceasta trebuie să dispunem de antigene constitutive ale virusului (utilizând o tehnologie adaptată recunoașterii de către anticorpi). Depistarea se face cu o reacție imunoenzimatică indirectă, utilizând – pe fază solidă – proteine virale provenite din regiunile cele mai constante ale genomului viral, obținute fie prin recombinare genetică fie prin prepararea sintetică a peptidelor.

După cum s-a arătat, truscle actuale fac apel la proteinele codate de reg. structurale (C. capsidă) și nestructurale ale genomului (NS3, NS4, uneori NS5) fiind cele mai utile pentru imunocuplare (ORTHO-CHIRON, ABBOT, ORGANON, DIAGNOSTICS-PASTEUR, BEHRING, WELLCOME, DIAGAST etc.).

c) Tehnicile de confirmare (validare), au devenit necesare ca urmare a procentului de reacţii fals pozitive, prin: Recombinant Immuno Blot Assay (RIBA), testul de neutralizare, Supplemental Assay, Matrix HCV, DOT HCV etc.). Ele validează Elisa dar nu pot stabili cu precizie portajul viral sau evolutivitatea. La donatori, screening-ul prin ORTO-ELISA e satisfăcător. Testul Liatex –HCV– ORGANON utilizează 6 antigene sintetice, dovedindu-se superior faţă de RIBA 2 (RIBA de gener. 2-a) care foloseşte 4 antigene: C 5.11, C 100.3, C 33c şi C 22–3. Cu cât numărul de Ag e mai mare, cu atât validarea e mai puţin necesară (RIBA 2 are nivel de sensibilitate de ~90%).

Particularizări; metode (15, 17, 22, 25, 29, 36)

Tabelul 7

Anticorpii anti VHC	• Ac faţă de prot. C 100.3 apar târziu în raport cu episodul citolitic acut (a 2-a lună după acesta, uneori la 30 săpt. după transfuzie). • Testele de gener. 2-a se pozitivează mai devreme (la 11–35 zile). • Există o mare diversitate privind gradul de seroconversie (mai ales pentru anti- C 100.3) în funcţie de distribuţia geografică. • Primii Ac care apar sunt anti C 33c şi/sau anti C 22–3; ei persistă > decât C 100.3 chiar după vindecare. • Seroconversia e mai frecventă în hepatitele acute evoluând spre formă cronică > în hepatitele acute rezolutive; anti C 100.3 se negativează mai des în hepatitele ce evoluează spre vindecare. • Diagnosticul e dificil la pacienţii cu hipogamaglobulinemie prin absenţa producţiei de Ac specifici. Ar avea rol în aceste situaţii creşterea IgM virus specifice.
ARN viral prin amplificare de genă (PCR)	• Evidenţierea ADN sau ARN viral în ser sau/şi în ficat apare ca singura metodă de detectare a genomului VHC, afirmând replicarea virală chiar în absenţa Ac anti-VHC (deoarece viremia e slabă, PCR permite graţie unei polimeraze (Taq) de a efectua cicluri repetate de sinteză ADN corespunzătoare unei secvenţe de acizi nucleici ţintă, cu amplificare exponenţială a secvenţelor de ARN). • PCR se pozitivează foarte precoce în hepatitele acute, la câteva zile înainte de apexul ALAT, înainte de seroconversia anti VHC (chiar a celor de gener. 2-a). În caz de vindecare, PCR se negativează paralel cu ALAT; în caz de evoluţie cronică, PCR sau rămâne pozitivă pe toată evoluţia sau are dinamică ondulantă. • ADN (secvenţa de nucleotizi) a confirmat transmiterea maternofetală (silenţioasă), cu rol în creşterea incidenţei infecţiei.

Particularizări; forme clinice (32, 42, 49)

Tabelul 8

Hepatita fulminantă	• Dificil de identificat rolul VHC, datorită apariției tardive a anticorpilor.
Hepatite cronice	• Ac anti C 100.3 serici sunt + la 70–80% din hepatitele cronice NANB. Testele de gener. 2-a diagnostichează→90% în ELISA și 87% în RIBA; o bună selecție ajunge la 98% confirmări (necesare pentru indicația interferonului). • PCR e mai frecvent + în hepatite cronice active și se corelează bine cu RIBA. • La cei tratați cu IFNα, Ac C 100.3 diminuă paralel cu PCR și ALAT ca indicator al răspusului favorabil.
Ciroza hepatică	• Procent de pozitivitate: Ac C 100.3 ~70%, gener. 2-a>80%.
Hepatocarcinom	• Ac anti VHC s-au găsit la 25–30% din cazurile de HC, dar majoritatea erau asociați cu markeri pentru VHB (Ac anti HBc); fiind un virus ARN (care nu se integrează în genomul celular), VHC probabil că nu e direct oncogen. • În Europa infecția cronică cu VHC (inducerea HC) e fie directă fie prin trecerea ciroză-adenociroză. În Japonia VHC e cauză majoră a CHC.

Corelația cu terapia cu IFNα în hepatita cronică agresivă cu VHC: 3^x/săpt. 1, 2–3 MU, eficacitate 30–50%, dar se notează și insuccese cu hepatotoxicitate, reacții autoimune. Markerii sunt obligatorii.

• ARN-VHB discriminează bine răspunsul favorabil și delimitează durata necesară a tratamentului; PCR e metoda electivă.

• Scăderea răspunsului la antigenele nestructurale (NS4, NS5), la imunoblot INNO-LIA-VHC-Sorin, și la epitopi-Ag proteice (C2) e paralelă cu scăderea până la nedetectabil a ARN-VHC.

5.4. MARKERII DE ASOCIERE CU ALTE ENTITĂȚI (10, 21, 32, 40, 46)

Tabelul 9

Cu VHB	• Cel puțin 10% din cazurile de hepatită cronică B (și B+D) au markeri C (Ac anti VHC) ca urmare a riscului epidemiologic asemănător. • Suprainfecția cu VHC joacă rol major în cronicizare: la HBS+Ac anti VHC s-au înregistrat următoarele prevalențe (21): – cu anti HBe[x)] și ADN-VHB: 35% – cu markeri B+D: 32% (cu HBe sau cu anti-HBe) – cu markeri B fără D: 15% (cu HBe sau cu anti-HBe). x) În infecția cu VHB, prezența AgHBe=fază replicativă, seroconversia la anti HBe=trecerea la infecția inactivă; deci cazurile cu anti HBe care nu replică (fără ADN-VHB) și fără D își datorează evoluția, activitatea și cronicizarea VHC (căci B nu are markeri de replicare, iar VHC rămâne factor major de risc evolutiv al bolii hepatice active).
Cu hepatitele alcoolice	• Ac anti VHC se evidențiază la alcoolici cu ciroză în procent de 27% față de 16% la cei fără anti VHC. • La comparația cu markerii pentru HBs, HBc și HBe, markerii pentru VHC au rol mai mare în dezvoltarea cirozei alcoolice (confirmare prin RIBA).
Cu hepatitele autoimune	• Ac anti VHC (și RIBA) se asociază în proporție mare (40–70%) cu hepatitele autoimune (inclusiv cu creșterea IgG, a Ac anti mușchi neted, anti reticol endoplasmic, anti mitochondrii).
Cu infecția cu HIV	• Asociația e favorizată de numeroase tratamente i.v. • Ac anti VHC scad paralel cu numărul CD4+. • În asociația VHC+HIV probele funcționale hepatice sunt alterate dar severitatea nu e (reciproc) modificată. • Asociația (coinfecția) (e de 15% față de 0,3% la o populație martor standard; ALAT crește constant dar la valori reduse.
Cu transplantul renal	• Prevalența infecției VHC e decelabilă prin răspunsul la antigenele NS 4, C1 și C2.

Asocierea anti VHC+HLA: B5, B35, BW60, (frecvent), A1, A3, A28, CW2, CW4 (mai puțin frecvent).

6. CONCLUZII

În ultimii ani, markerii imuni au devenit, în domeniul hepatitelor virale, un mijloc esenţial de individualizare a diferitelor tipuri de virus, contribuind la identificarea acestora, la stabilirea mecanismelor etiopatogene, la definirea parametrilor clinico-evolutivi, la delimitarea particularităţilor epidemiologice şi la evaluarea eficienţei metodelor curativo-profilactice.

Markerii cu semnificaţie diagnostică au fost supuşi unei optimizări permanente, obţinându-se noi generaţii de tehnici apte de a creşte substanţial indicele de precizare etiologică, chiar în condiţiile unor variante genetice ale virusului cu componente antigenice diferite.

Urmărirea modificărilor dinamice ale markerilor imuni e în măsură de a face precizări referitoare la tipul de infecţie (autolimitată, persistentă, evolutivă), să delimiteze asociaţiile predilecte (cu virusul HIV, asociaţii între virusurile hepatitice, cu manifestări imunopatologice etc.), precum şi tendinţa de progresie către boală cronică de ficat sau carcinom hepatocelular.

Cu toate că utilizarea corelată a indicatorilor imuni nu a reuşit de a delimita cu certitudine mecanismele patogene particulare fiecărui categorii de virus (obiectiv de altfel important, deoarece va orienta în viitor mai judicios conceptul terapeutic), se poate totuşi admite că acestea oscilează consistent între efectul citopatogen şi procese imunopatogene, cu precădere T-dependente.

BIBLIOGRAFIE

1. ADLER R., SHOUVAL D. – *A Finger – Stick Assay for Determination of Immunity to Hepatitis A: a preliminary Report;* J. of Hepatology, 1993, 18, suppl. 2, 27–31.
2. ANDRIUŢA A., DRAGOMIRESCU M., ANDRIUŢA C. – *Caracteristici comparative ale hepatitei virale B şi D la gravide;* Tezele Conferinţei ştiinţifice anuale, Chişinău, 25–27 mai 1993, 100.
3. ANDRIUŢA A., NEGRUŢIU L., DRAGOMIRESCU M., NICOARĂ EMILIA, SĂLĂGEAN L. – *Incidenţa şi semnificaţia anticorpilor anti-Delta la pacienţii cu hepatită cronică post-virală;* A XXII-a Confer. Naţion. Imunologie (Bucureşti) 1993, 20–22 sept. 59.
4. ANDRIUŢA A., VIAZOV S., MOISIL TEODORA, DRAGOMIRESCU M. – *Incidenţa markerilor infecţiei cu virusul delta la gravide şi la nou-născuţi.* A XXII-a Confer. Naţion. Imunol. (Bucureşti) 20–23 sept. 1993, 57.
5. ARAL Y.Z., BEYAZOVA U., ATALAY Y., ULUTAN F. – *Immunoprophilaxis in Babies born to HBsAg-positive Mothers and their Family Members;* 6th Europ. Congress Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 28–31 March 1993, 170.

6. ARMSTRONG M.E., GIESA PAULA A., DAVIDE J.P., REDNER FRANCINE, WATERBURY JULIE A., RHOAD A.E., KEYS R.D., PROVOST P.J., LEWIS J.A. – *Editorial;* J. of Hepatology, 1993, 18, suppl. 2, 20–26.
7. BENOIT T., – *Expression anormale de sequences du virus de l'hépatite B intégrée dans des carcinomes hépatocellulaires humains;* Gastroent. Clin. biol., 1992, 16, 511–517.
8. BERGMANN K.F., COTE P.J., MORIARTY A., GERIN J.L. – *Antigenic Structure and Humoral Immune Response of the Hepatitis Delta Antigen;* J. of Immunology, 1989, 143/11, 3714–3721.
9. BOUFFARD P., HAYASHI P.H., ACEVEDO R., LEVY N. – *Hepatitis C Virus is detected in a Monocyte/Macrophage subpopulation;* J. Infect. Dis. 1992, 166/6, 1276–1280.
10. BRILLANTI S., BARBARA L., MIGLIOI M., BONINO F. – *Hepatitis C Virus: a possible cause of Chronic Hepatitis in alcoholics;* Lancet, 1989, II/8676, 1390–1391.
11. BURANS J.P., SHARP T., WALLACE M., LONGER C., THORTON S., BATCHELOR R., CLEMENS V., HYAMS C.K. – *Threat of Hepatitis E virus Infection in Somalia During Operation Restore Hope;* Clin. Inf. Dis. 1994, 18/1, 100–102.
12. BUTUR D., BĂLTEANU MONICA, PETROVICI MARIA, NEGUŢ E., NICOLESCU I., CONSTANTINESCU S., BULIGESCU L., URSEA N., CAPŞA C. – *Determinarea imunoenzimatică a markerilor infecţiei cu virusurile hepatitice B, C, D şi HIV, precum şi analiza proteinelor plasmatice la hemodializaţi şi la personalul medical din centrele de hemodializă;* A XXII-a Confer. Naţion. Imunol. (Bucureşti) 20–23 sept. 1993, 56.
13. CAMARA M., PAREDES P., RAMIREZ J.M., ARTERO J.M., MARTINLUENGO F. – *Comparison of 1st and 2nd generation Elisa in the detection of Antibodies anti-HCV in recluse population;* 6th Europ. Congress Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 28–31 March 1993, 171.
14. CARMAN W.F., JACYNA M.R., HADZIYANNIS S., KARAIYANNIS P., MCGARVEY M.J., MAKRIS A. – *Mutation preventing formation of Hepatitis B Antigen in Patients with chronic Hepatitis B Infection;* Lancet, 1989, II/8667, 588–590.
15. CHAPLAIN C., ANDRIEU J., ROUSSIN-BRETAGNE S., POLL J., GHNASSIA J.C., HARZIC M. – *PCR evolution in HCV seropositive Patients;* 6th Europ. Congress Clin., Microbiology and Infectious Diseases: Sevila, 28–31, March 1993, 170.
16. CONTRERAS MARCELA, BARBARA J.A.J. – *Screening for Hepatitis C Virus Antibody;* Lancet, 1989, II/8661, 505.
17. DOLCI L., PIACENTINI I. – *Sexual transmission for Hepatitis C Virus;* what are the Probabilites; 6th Europ. Congress Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 28–31 March 1993, 170.
18. DRAGOMIRESCU M. – *Terenul şi Infecţia,* Edit. Academiei Române (Bucureşti), 1988, 202–210.
19. DRAGOMIRESCU M., NOVAC E., BUZINSCHI S. – *Patogenia infecţiilor,* Ed. Facla (Timişoara), 1980, 142–164.
20. DRAGOMIRESCU M., NOVAC E., NICOARĂ EMILIA – *On the main Modalities of Progression in Infectious with the HB Virus;* Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol. 1980, 3/39, 239–244.
21. FATTOVICH G., TAGGER A., BROLIO L., GIUSTINA G., PONTISSO P., REALDI G., ALBERT A., RUOL A., – *Hepatitis C Virus Infection in Chronic Hepatitis B Virus Carriers;* J. Infect. Dis. 1991, 163/2, 400–402.
22. FORTI E., GALLI C., PERSO G., FORTI A. – *Serological Response to different HCV Antigens;* 6th Europ. Congress. Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 28–31 March 1993, 171.
23. GERLICH W. – *Hepatitis B Surface Proteins;* J. Hepatology, 1991, 13 suppl. 4, S90–S92.
24. HADLER S.C., MCFARLAND LOUISE – *Hepatitis in Day Care Centers: Epidemiology and Prevention;* Rev. Infect. Dis. 1986, 8/4, 548–557.
25. INOUE Y., TAKEUCHI K., CHOU W.H., UNAYAMA T., TAKAHASHI K., SAITO I., MIYAMURA T. – *Silent mother to child transmission of Hepatitis C virus*

through two generations determined by comparative nucleoside sequence analysis of the viral c-DNA; J. Infect. Dis. 1992, 166/6, 1245–1248.

26. JILG W. – *Adult use of Hepatitis A Vaccine in Europe;* 5th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Oslo, 9–11 sept. 1991, 31–32.
27. JILG W., BITTNER RUTH, SCHATZL H., RASHOFER R., SCHMIDT MARION, DEINHARDT F. – *The Immune Response to different Doses of inactivated Hepatitis A Vaccine;* J. of Hepatology 1993, 18, suppl. 2, 38–40.
28. JOHNSTON J.M., HARMON A.S., BINN L.N., RICHARDS O.C., EHRENFELD E. SUMMERS D.F. – *Antigenic and Immunogenic Properties of a Hepatitis A virus Capsid Protein Expressed in Escherichia coli;* J. Infect. Dis. 1988, 157/6, 1203–1211.
29. KAMITSUKASA H., HARADA H., YAKURA M., FUKUDA A., OHBAYASHI A., SAITO I., MIYAMURA T., CHOO Q.L., HOUGHTON M., KUO G. – *Intrafamilial Transmission of Hepatitis C Virus;* Lancet, 1989, II/8669, 987.
30. KARRON R.A., DAEMER R., TICEHURST J., D'HONDTE, POPPER H., MIHALIK K., PHILLIPS J., FEINSTONE S., PURCELL R.H. – *Studies of Prototype Live Hepatitis A Virus Vaccines in Primate Models;* J. Infect. Dis. 1988, 157/2, 338–340.
31. LEMON S.M. – *Immunologic Approaches to assesing the Response to inactivated Hepatitis A Vaccine;* J. of Hepatology, 1993, 18, suppl. 2, 15–19.
32. LUNEL FRANCOISE – *Virus de l'Hépatite C: le virus responsable de la plupart des hépatites dites non A, non B:* Lab. de Bactériol-Virol-Hôp. Pitié Salpétrière – Paris (Thèse); „Gastroentérol. Clin. et Biol" 1992, 16, 518–536.
33. MANDEL G.L., DOUGLAS R.G., BENETT J.E., – *Principles and Practice of Infectious Diseases,* 3rd ed., Churchill Livingstone (New York), 1990, 1204–1231.
34. MANNUCCI P.M., COLOMBO M. – *Virucidal Treatment of Clotting Factor Concentrates;* Lancet, 1988, II/8614, 782–785.
35. MARGOLIS H.S., SHAPIRO G.N. – *Considerations for the Development of Recommendations for the use of Hepatitis A Vaccine;* J. of Hepatology, 1993, 18, suppl. 2, 56–60.
36. MCOMISH F., CHAN S.W., SIMMONDS P., YAP P.L. – *Detection of different Strains of the Hepatitis C Virus;* Bioforum 1993, 11, 414–420.
37. MITSUDA T., YOKOTA S., MORI T., IBE M., OOKAWA N., SHIMIZU H., AIHARA Y., YOSHIDA N., MATSUYAMA S. – *Demonstration of Mother-to-Infant Transimission of Hepatitis B Virus by means of Polymerase Chain Reaction;* Lancet, 1989, II/8668, 886–888.
38. NEGRUȚIU L., DRAGOMIRESCU M., DRAGOMIRESCU LETIȚIA – *Immunogetic implications in the response of immunomodulant therapy in patients with viral B hepatitis;* International Sympos: Recent developm. in obstetric, perinatal and chilhood infections, Jerusalem, 1992, August 23–29, 25–26.
39. NICOARĂ EMILIA, ROȘIU NATALIA, DRAGOMIRESCU M., ANDRIUȚA A., CURESCU MANUELA, DRAGOMIRESCU LETIȚIA, CRIȘAN A., NAN DELIA, SALAGEAN L., VERDES A. – *Precizarea etiologică prin metoda imunoenzimatică în hepatitele cronice virale;* A XII-a Conf. Naț. Imunol. (București), 1993, 17.
40. OZYLKAN E., TĂTAR G. – *The Association between HLA Antigens and Anti-HCV positive Liver Diseases;* 6th Europ. Congress Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 28–31 March 1993, 170.
41. PARRY J.V., FARRINGTON C.P., MILLER ELIZABETH – *Rational Programme for Screening Travellers for Antibodies to Hepatitis A Virus;* Lancet, 1988, I/8600, 1447–1449.
42. PAO CHILA C., HSIEH T.T., YAO DING S., – *Hepatitis type C Virus in peripheral Blood Mononuclear Cells of Chronic Hepatitis C Patients;* 6th Europ. Congress Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 28–31 March 1993, 172.
43. POOVORAWAN Y., TIEAMBOONLERS A., CHUMDERMPADETSUK S., GLÜK R., CRYZ S.J. – *Control of Hepatitis A Outbreak by Active Immunization of High-Risk Susceptible subjects;* J. Inf. Dis. 1994, 169/1, 228–229.

44. PURCELL R.H. – *Control of Hepatitis A by inactivated vaccines: unanswered questions and unresolved issues;* J. of Hepatology, 1993, 18, suppl. 2, 60–64.
45. RASSHOFER R., BUTI M., ESTEBAN R., JARDI R., ROGGENDORF M. – *Demonstration of Hepatitis D Virus Patients with Chronic Hepatitis;* J. Infect. Dis. 1988, 157/1, 191–195.
46. SARRION A., GORRIZ J.L., PALLARDO I.M., GOBERNADO M. – *Kidney Transplant, Hepatopaty and Hepatitis C Virus Serology;* 6th Europ. Congress Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 28–31 March 1993, 172.
47. SCOTTO G. – *Our Experience with Interferon Alfa in Therapy of Chronic Active Hepatitis B in children;* 6th Europ. Congress Clin. Microbiology and Infectious Diseases, Sevilla, 38–31 March 1993, 170.
48. SHOUVAL D., ASHUR Y., ADLER RUTH, LEWIS J.A., MILLER W., KUTER BARBARA, BROWN LEORA, NALIN D.R. – *Safety, tolerability and immunogenicity of an inactivated Hepatitis A Vaccine: effects of single and booster injections and comparison to administration of Immune Globulin;* J. of Hepatology, 1993, suppl. 2, 32–37.
49. SIMONETTI R.G., COTTONE M., CRAXI A., PAGLIARO L., RAPICETTA M., CHIONNE P., CONSTANTINO A. – *Prevalence of Antibodies to Hepatitis C Virus in Hepatocellular Carcinoma;* Lancet 1989, II/8675, 1338.
50. STAPLETON J.T., LANGE D.K., LE DUC J.N., BINN N., JANSEN R.W., LEMON S.M. – *The Role of Secretory Immunity in Hepatitis A Virus Infection;* J. Infect. Dis. 1991, 163/1, 7–11.
51. TAYLOR J. – *Hepatitis delta virus;* J. Hepatology, 1991, 13, suppl. 4, S114–S116.
52. WANG JIN T., LIN J-T., SHEU J-C., WANG T-H., CHEN D-S. – *E Virus and Posttransfusion Hepatitis;* J. Inf. Dis. 1994, 169/1, 229–230.
53. YOSUF J.H.M., FLOWER A.J.E., TEO C.G. – *Transmission of Hepatitis B Virus analyzed by Conformation – Dependent Polymorphism of Single – Stained Viral. DNA;* J. Inf. Dis. 1994, 169/1, 62–67.
54. ZAHM F.E. – *Viral Hepatitis and its Treatment: Present and future;* J. of Hepatology, 1991, 13 suppl. 4, S163–S170.

LUPUSUL ERITEMATOS SISTEMIC

Prof. H. BOLOȘIU
SIMONA REDNIC

Clinica II Medicală
Universitatea de Medicină și Farmacie
„I. Hațeganu"
Cluj-Napoca

1. ETIOLOGIE

În ciuda eforturilor intensive făcute în această direcție nu se cunoaște încă etiologia lupusului eritematos sistemic (LES). Înainte de a pune acest eșec pe seama absenței abilității cercetărilor sau insuficienței tehnologiei actuale, trebuie avute în vedere și alte explicații. În primul rând, ceea ce noi numim LES poate fi expresia unui mecanism patogenetic comun inițiat de mai mulți factori. În al doilea rând, s-ar putea ca LES să nu fie o singură boală, ci mai degrabă un sindrom, o constelație de semne și simptome produse de mai mulți agenți etiologici, mărturie fiind în acest sens diversele subtipuri de LES care încep să se contureze tot mai ferm o dată cu o mai bună caracterizare a autoanticorpilor. În al treilea rând, tot mai multe fapte pledează pentru o etiologie multifactorială (1). Oricum, LES implică atât agenți patogeni specifici, cât și o predispoziție particulară a gazdei. Mai mulți factori virali, genetici, medicamentoși sau hormonali, au fost propuși ca factori etiologici în LES. Este mai probabil că nici unul dintre aceștia nu intervine singur în producerea bolii clinice. Apariția LES necesită dereglarea interrelației complexe dintre gazdă, agent etiologic și diverși factori de mediu. Oricare teorie etiologică trebuie să explice persistența și mai ales variația intensității și a severității în această boală, ceea ce este dificil în ipoteza etiologiei infecțioase și încă mai greu de întrevăzut în perspectiva determinismului său ereditar.

1.1. MODELELE ANIMALE DE LUPUS ERITEMATOS SISTEMIC

Primele explicații patogenice pentru LES au fost făcute pornindu-se de la modelele animale. Există mai multe specii de șoareci care realizează în mod spontan diverse afecțiuni autoimune care seamănă în mare măsură cu LES uman (2).

Primul și încă cel mai bun model experimental pentru LES este boala spontană a șoarecilor negri rasa Noua Zeelandă (NZB) și hibrizii lor de generația întâi cu șoarecii albi (NZB x NZW)F1. La femelele acestei specii anomaliile imune, inițial fără expresie clinică, apar din primele luni de viață. Manifestările clinice apar începând din luna a treia de viață, de obicei ca glomerulonefrită sau mai rar ca anemie hemolitică. În 10–20% din cazuri acești șoareci pot să dezvolte un limfom malign sau o proliferare monoclonală. Femelele sunt mai frecvent afectate. În transmiterea predispoziției la boală se pare că sunt implicate gene nelegate de complexul major de histocompatibilitate (CMH). Limfocitele B (LB) ale acestor șoareci sunt hiperreactive la antigeni străini și secretă cantități mari de imunoglobuline M (IgM). Îndepărtarea limfocitelor T (LT) imunocompetente nu duce la modificarea comportamentului LB. Nu toate LB reacționează la fel, ci doar o anume subpopulație (3). La șoarecii CBA/N, posesori ai unei gene (xid) capabilă să inactiveze această subpopulație, anticorpii sunt semnificativ reduși și nu se dezvoltă boala prin complexe imune. O mare atenție a fost acordată unor subpopulații LB purtătoare a antigenului CD5 sau echivalentul ei murin-Lybl. Ele sunt bine reprezentate la șoarecii NZB, dar în schimb nu sunt semnificativ crescute la om. La acesta, atât celulele CD5-pozitive, cât și CD5-negative produc autoanticorpi. Funcția LT este normală sau crescută devreme în viața șoarecilor NZB. Mai puțin caracteristică decât modificarea LB, anomalia este sigur independentă de aceasta. Există și unele dovezi ale reducerii funcțiilor LT supresoare. Modelul propus a fost cel al unor autoanticorpi antilimfocitari specifici împotriva acestor LT (4).

Un al doilea model animal pentru lupus îl oferă șoarecii MRL/1, respectiv unele din subspeciile lor purtătoare a genei autosomal recesive pentru limfoproliferare-1pr, șoarecii MRL-1pr/1pr. Acești șoareci au media de viață mult scurtată (4,5 luni față de 20 de luni) pentru că mor prematur cu glomerulonefrită și limfoame. În cursul vieții, aceștia dezvoltă, fără deosebire semnificativă între sexe, o glomerulonefrită prin complexe imune similară glomerulonefritei lupice, o vasculită asemănătoare celei din poliarterită, infiltrat al glandelor salivare ca și în sindromul Sjögren și o poliartrită. Numai șoarecii cu gena lpr pot să dezvolte un sindrom limfoproliferativ (adenopatie masivă, splenomegalie). La această specie rolul primordial se pare că revine LT. De altfel substratul limfadenopatiei este proliferarea limfocitară CD4-CD8, care fenotipic sunt LT imature. Rolul LT este susținut și de faptul că timectomia neonatală previne dezvoltarea limfoproliferării și a autoimunității. LT proliferate secretă citokine care stimulează creșterea și dezvoltarea LB cu hipergamaglobulinemie (mai ales IgG), apariția anticorpilor antinucleari (AAN), anti-ADN nativ și anti S_m, a factorului reumatoid tip IgM, complexelor imune circulante (CIC) și crioglobulinelor (5). Prin urmare, defectul LT răspunde mai probabil de boala autoimună la șoareci MRL/1 și indirect

acționează asupra LB provocând secreția policlonală de imunoglobuline, cu aceleași consecințe ca și la sușa NZB.

Al treilea model este oferit de specia BXSB la care susceptibilitatea față de boală este transmisă legată de cromozomul Y și doar masculii dezvoltă boala. Acești șoareci prezintă o proliferare policlonală cu secreție de autoanticorpi similară cu a celorlalte specii.

În concluzie, modelele animale realizează boli similare clinic și serologic cu LES, care însă se pare că diferă fundamental între ele prin modul apariției, oferind mai multe modele patogenetice. Fiecare specie dintre sușele descrise dezvoltă două forme ale bolii: la vârste tinere animalele manifestă anomaliile serologice, tardiv ele fac nefrită prin complexe imune și alte boli autoimune (tabelul 1).

Tabelul 1

Anomalii imunologice la șoarecii autoimuni

	NZB	NZB/NZW	MRL/1	BXSB
Anomalii cantitative				
– LB	scad	scad	normal	cresc
– LT	scad	scad	cresc mult	normal
– hiperplazie limfoidă	+	+	+++	++
Anomalii calitative				
– LB				
– scăderea toleranței, activare policlonală	+, devreme	+, devreme	+, tardiv	+
– efectul genei xid	previne	previne	întârzie	previne
– LT				
– scăderea toleranței	+	+	+	+
– autoanticorpi	+	++	+++	++
– anti ADN	+	++	+++	++
– factor reumatoid	–	–	+	–
Predilecția pentru sex	femele	femele	femele, masculi	masculi
Factori acceleratori				
– hormonali	±	+	+	–
– genetici	autosomal recesiv gena xid	autosomal recesiv	autosomal recesiv gena lpr	Y-linkată
– infecții virale	+	+	+	+

Un fapt este cert: autoimunitatea observată la șoareci este sub control multigenic – gena lpr accelerează și agravează boala la șoarecii MRL, gena xid de pe cromosomul X' previne apariția modificărilor la șoareci NZB și o genă legată de cromozomul Y al șoarecilor BXSB răspunde de apariția bolii lupice la masculii acestei specii.

1.2. FACTORI INFECȚIOȘI

Etiologia virală a LES a fost suspectată de când unele observații de microscopie electronică au evidențiat incluziuni tubuloreticulare în celulele organelor afectate de boală care seamănă cu incluziunile intracelulare date de unele nucleoproteine virale, mai ales paragripale și în particular virusul rujeolic (6). Lucrări ulterioare au evidențiat că aceste structuri sunt expresia unor manifestări nespecifice la mai multe agresiuni celulare, care acționează prin intermediul creșterii alfa-interferonului (alfa-IF) (7).

Studii serologice a diverșilor anticorpi antivirali au evidențiat titruri ridicate pentru mai multe virusuri: rujeolic, rubeolic, unele virusuri paragripale, al parotiditei epidemice și virusului Epstein-Barr. Rezultatele acestea au fost interpretate în contextul activării policlonale nespecifice a LB (tabelul 2).

Tabelul 2

Agenți infecțioși implicați în etiologia LES

Virusuri	Bacterii
Mixovirusuri	Streptococ
Reovirusuri	Adjuvant Freund
Virus rujeolic	Alte lipopolizaharide bacteriene
Virus rubeolic	
Virus Ebstein Barr	
Virusul parotiditei epidemice	
Ocornavirusuri tip C	
Retrovirusuri tip C	

Gallo și colaboratorii au descris o dată cu virusul imunodeficienței umane (HIV) întreaga familie a acestuia – HTLV (*human T lymphotrophic viruses*), grupă care aparține retrovirusurilor și a căror infectivitate și patogenitate umană a fost de acum bine stabilită. Nu s-au găsit anticorpi împotriva acestori virusuri în serul pacienților cu LES. S-au evidențiat însă antigene virale în țesuturile lupice, deși nu a fost posibilă izolarea virușilor în întregime indiferent de metoda folosită.

În prezent există tehnici moderne care permit detectarea unor proteine virale sau a materialului genonmic, de exemplu metoda PCR (*polymerase chain reaction*). Chiar dacă acestea evidențiază material care ar putea fi viral, rămâne de demonstrat faptul că acesta este cauza și nu rezultatul LES.

Modelele animale susţin ipoteza etiologiei virale în această boală. Toţi şoarecii NZB au concentraţii mari de particule şi antigene retrovirale tip C în ţesuturi. Aceste virusuri par să aibă un rol patogenetic bine stabilit în nefrită, deoarece concentraţii mari de anticorpi îndreptaţi împotriva structurilor virale, mai ales împotriva învelişului viral, respectiv a unui antigen glicoproteic gp-70, pot fi identificate în depozitele glomerulare.

Nu a fost însă clar demonstrat dacă infecţia virală răspunde de amorsarea procesului (auto)imun sau numai de întreţinerea şi perpetuarea lui.

Observaţia că autoanticorpi limfocitotoxici (frecvenţi în LES) sunt prezenţi la mai mult de o treime din rudele asimptomatice ale bolnavilor cu care locuiesc împreună sub „acelaşi acoperiş" sau la laboranţi care manipulează serurile unor bolnavi cu LES, implică mai puţin factori genetici şi mai degrabă factori de contagiune care nu au fost încă precizaţi (8).

1.3. FACTORI GENETICI

Mai multe elemente pledează pentru intervenţia factorilor genetici în apariţia şi dezvoltarea LES.

Observaţia asupra frecvenţei crescute a bolii între rudele pacienţilor cu LES, faţă de populaţia generală, a fost făcută demult. Studiile de prevalenţă a bolii dau cifre diferite în funcţie de aria geografică studiată, dar cifrele medii se situează în jurul a 10 cazuri la 100 000 locuitori (cu extreme între 2,9 şi 400) (9). Riscul îmbolnăvirii între rudele pacienţilor cu LES este situat între 0,4 şi 5%, cifre de sute de ori mai mari decât în populaţia generală. Anomalii imunologice fără expresie clinică, sunt mai frecvente între membrii de familie ai pacienţilor cu LES faţă de loturile de control (10). Există o remarcabilă concordanţă (30–60%) între prezenţa AAN, hipergamaglobulinemiei şi expresia bolii între gemenii monozigoţi. Pe de altă parte, frecvenţa LES la gemeni heterozigoţi, nu este mai mare decât la alte rude de gradul întâi (11, 12).

Există grupuri etnice cu prevalenţă mult crescută pentru LES. Negrii de provenienţă africană din America dezvoltă boala de 3 ori mai frecvent decât populaţia generală (13). Unii indieni americani au o incidenţă anuală a LES, mult crescută faţă de alte triburi sau faţă de populaţia generală. Şi aici femeile sunt semnificativ mai frecvent afectate. Femeile cu ascendenţă asiatică sau polineziană au riscul de a dezvolta forme severe de boală.

Antigenele de histocompatibilitate (HLA) au fost intens studiate la pacienţi cu LES, în tentativa de a descoperi diferenţa în susceptibilitate, exprimare serologică sau prognostic (10). Persoanele normale purtătoare a haplotipurilor HLA-B8/DR3 posedă o hiperreactivitate imună evidentă atât pe linie umorală, cât şi pe linie cellulară (14). În LES există o oarecare asociere, dar slabă, cu antigenele HLA-DR2, DR3 şi B8. Asocieri ceva mai strânse s-au putut face între unele haplotipuri HLA-DR şi producerea anumitor tipuri de autoanticorpi (anti-Ro, anti-ADN, antifosfolipide) mai degrabă decât cu boala în sine (15) (fig. 1). Având în vedere predispoziţia genetică semnificativă (vezi gemeni, grupuri etnice, familii etc.), şi slaba asociere cu HLA, se pare că această susceptibilitate se transmite prin alte gene decât cele ale CMH de pe cromozomul 6.

Genele care controlează sinteza diverselor componente ale complementului sunt situate tot în cadrul locusului HLA (genele de clasa a III-a CMH). Defectul homozigot al unor fracţiuni ale complementului mai ales C2

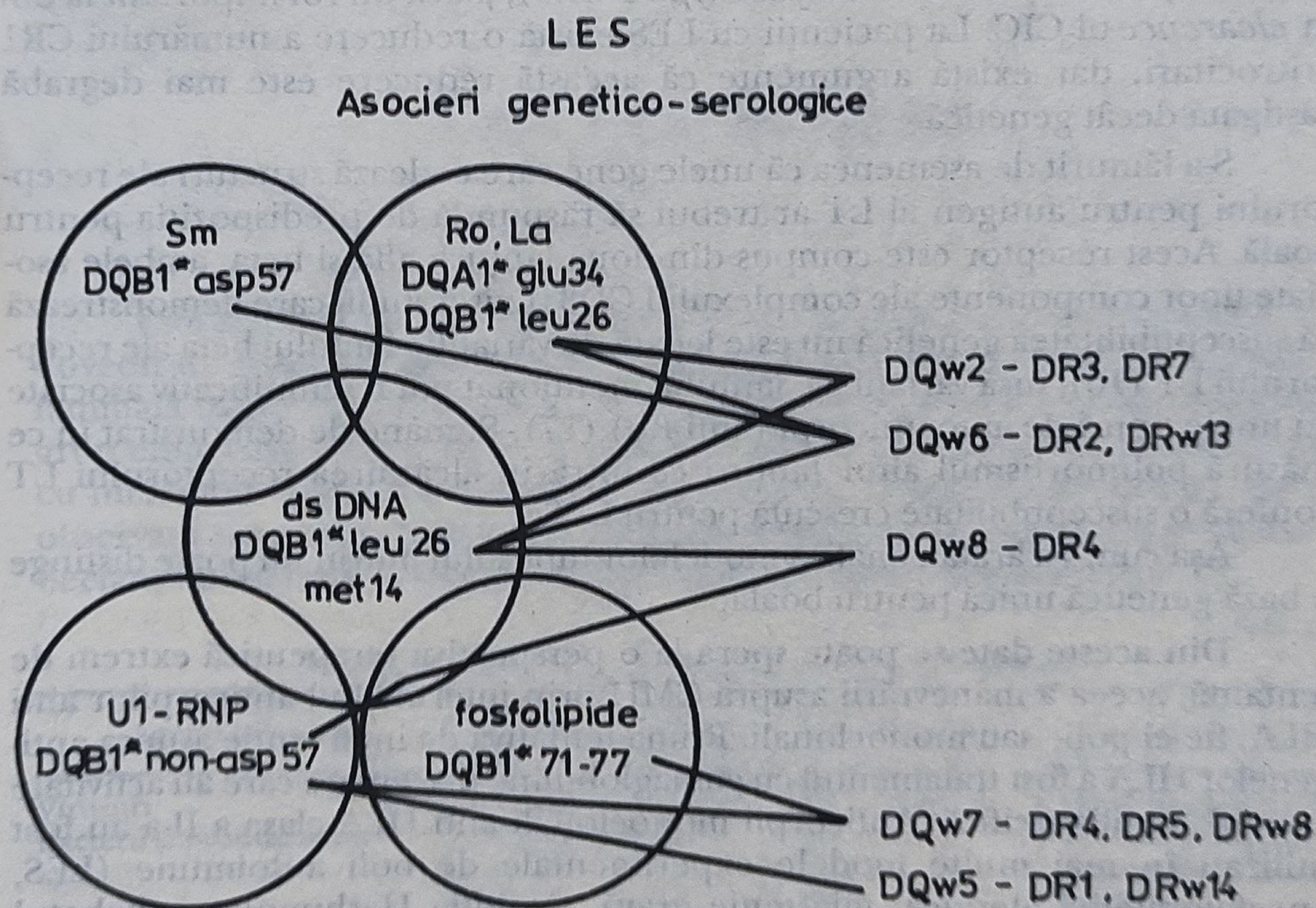


Fig. 1. Reprezentarea schematică a asocierii HLA cu subseturile de autoanticorpi în lupus. HLA-DR şi alelele lor de linkaj HLA-DQ sunt prezentate în afara cercurilor care includ autoanticorpii. Reziduurile de aminoacizi din moleculele HLA-DQ care manifestă cele mai strânse legături cu antoanticorpii specifici sunt prezentate în cercuri (după Dubois, 1993).

și C4, este frecvent asociat LES și lupusului discoid. Deoarece genele ce codează aceste proteine fac parte din CMH și sunt în dezechilibru de linkaj cu altele care aparțin aceluiași sistem s-a bănuit că asocierea LES cu depleția acestor gene ce codează complementul este mai degrabă o coincidență. Un argument împotriva acestei afirmații este observația că deficitul câștigat al fracțiunilor C2 și C4, așa cum se întâmplă în angioedemul ereditar, predispune la apariția LES. Alte studii efectuate în familiile de mexicani demonstrează că deficitul de C4, fără a fi asociat unui haplotip particular HLA, este suficient pentru a conferi susceptibilitatea la boală. Aproape 45% din caucasieni cu LES au fost găsiți a avea deleția fragmentului C4A, de pe unul sau ambii cromozomi. Pe de altă parte 50% din pacienți HLA-DR3 pozitivi suferind de LES au deleția fragmentului C4A, făcând din aceasta un marker genetic mai important pentru susceptibilitatea la boală decât apartenența la haplotipurile B8, DR2 sau DR3 (15).

Există unele dovezi că receptorul pentru complement al eritrocitelor (*erythrocyte complement receptor type 1-CR1*), joacă un rol important la om în *clearence*-ul CIC. La pacienții cu LES există o reducere a numărului CR1 eritrocitari, dar există argumente că această reducere este mai degrabă câștigată decât genetică.

S-a lămurit de asemenea că unele gene care codează structuri ale receptorului pentru antigen al LT ar trebui să răspundă de predispoziția pentru boală. Acest receptor este compus din două lanțuri; alfa și beta, ambele asociate unor componente ale complexului CD3. Există studii care demonstrează că susceptibilitatea genetică nu este legată de variațiile lanțului beta ale receptorului LT (16), însă variații ale lanțului menționat pot fi semnificativ asociate cu unele tipuri de autoanticorpi (anti Ro) (17). Rămâne de demonstrat în ce măsură polimorfismul altor lanțuri ce intră în alcătuirea receptorului LT conferă o susceptibilitate crescută pentru LES.

Așa cum s-a arătat, analiza modelelor lupusului murin nu poate distinge o bază genetică unică pentru boală.

Din aceste date se poate spera la o perspectivă terapeutică extrem de tentantă, aceea a manevrării asupra CMH prin intermediul anticorpilor anti HLA, fie ei poli- sau monoclonali. Prima tentativă de intervenție asupra antigenelor HLA a fost tratamentul cu gamaglobuline placentare care au activitate anti HLA-polispecifică. Anticorpii monoclonali anti HLA clasa a II-a au fost utilizați în mai multe modele experimentale de boli autoimune (LES, encefalomielită alergică, miastenie gravă, tiroidita Hashimoto și diabetul zaharat autoimun). Acest tip de tratament are mai ales o acțiune preventivă și mai puțin curativă a bolilor deja constituite. Anticorpii monoclonali induc imunodepresia specifică a unui tip dat, fără imunodepresie globală. La șoarecii NZB/NZW/F1, anticorpii monoclonali anti HLA-DR induc o remisie de lungă durată a lupusului, chiar la animale cu atingere renală deja con-

stituită: stabilizează proteinuria și cresc supraviețuirea după 1 an de la 10% la 90%. Rezultatele persistă 3 luni de la încheierea tratamentului (18). Există unele probleme ale utilizării acestor anticorpi, cum ar fi toxicitatea potențială și inducerea neoplaziilor. Efectele tardive nu sunt cunoscute încă.

Un mijloc terapeutic și mai seducător par să ofere peptidele blocante. Acestea se fixează pe structuri celulare de suprafață, inclusiv ale sistemului HLA, având acțiune competitivă cu unele antigene străine sau autoantigene inițiatoare. În structura antigenelor HLA s-a identificat o succesiune de aminoacizi numită „zona de susceptibilitate peptidică" care se regăsește în două proteine microbiene: glicoproteina 110 a virusului Epstein-Barr și proteina de șoc termic (*heat shock protein*) din *Esherichia coli*. Obținerea unor peptide blocante a acestei zone nu este prea dificilă și ar oferi perspective terapeutice specifice (19).

1.4. FACTORI DE MEDIU

Este sigur că factorii genetici nu intervin singuri în etiologia LES, fapt dovedit de absența coincidenței bolii la gemenii monozigoți, de agregarea familială totuși redusă, ca și de prevalența scăzută a bolii în cadrul aceluiași grup etnic care trăiește în părți diferite ale globului (ex. chinezii din Beijing cu incidență crescută și cei din San Francisco cu incidență redusă). Aceste observații sugerează ca factori de mediu joacă un rol important, probabil ca declanșator al bolii la indivizi cu predispoziție genetică (tabelul nr. 3).

Tabelul 3

Agenți cu potențial rol de *trigger* în LES și boli asociate

Agenți infecțioși	Factori chimici	Radiații	Factori alimentari
Virusuri Bacterii și produși ai lor	Medicamente Agenți chimici	UV	Dietă hipercalorică Dietă hiperlipidică Aminoacizi (L-ca navanină)

Există o listă lungă de medicamente care pot induce sindroame clinice similare LES, reunite toate sub termenul lupus medicamentos. Primul inductor medicamentos al lupusului a fost raportat în 1945 ca fiind sulfadiazina. Au urmat hidralazina în 1953 și procainamida în 1962 (20). S-a făcut distincția

între substanţele care determină sindroame lupice reversibile la întreruperea tratamentului şi altele, de exemplu hormoni estrogeni, care pot exacerba sau uneori declanşa un lupus eritematos idiopatic. Multe din medicamente induc fenomene autoimune, ca producţia de autoanticorpi, fără să determine neapărat şi manifestări clinice. De exemplu, peste 90% din pacienţii ce consumă procainamidă dezvoltă AAN, dar numai 30% au şi manifestări clinice de lupus. Hidralazina induce AAN la 25–30% şi manifestări clinice doar la 10% (20). Multe din medicamentele iniţial incriminate în declanşarea sindroamelor lupice nu s-au dovedit a fi agenţi inductori. În prezent la şase substanţe – procainamida, hidralazina, isoniazida, metildopa, chinidina şi clorpromazina – li se recunoaşte ferm capacitatea de a declanşa LES.

Lupusul eritematos sistemic medicamentos apare cu frecvenţă egală la ambele sexe şi la vârste mai avansate decât boala idiopatică. Mecanismul prin care se produce boala este deocamdată necunoscut. S-a renunţat la ideea că „acetilatorii lenţi" ai acestor substanţe ar reprezenta un risc faţă de aceasta. Rămâne însă ca un fapt indubitabil că întreruperea medicaţiei duce la dispariţia simptomatologiei în câteva zile şi a sindromului imunologic în săptămâni, luni sau ani.

Multe din medicamentele implicate în producerea lupusului medicamentos (procainamida, hidralazina) au în structura lor amine aromatice sau hidrazine. Ambele aceste grupări pot declanşa sindroame lupice. Hidrazina şi compuşii săi se găsesc în o serie de toxice industriale sau agricole, fiind produşi intermediari în sinteza de mase plastice, anticorozive, ierbicide, pesticide, material fotografic, fibre textile etc. Hidrazina se găseşte de asemenea în tutun şi chiar în fumul de ţigară. Aminele aromatice sunt prezente în alimente ca şi colorant sintetic şi în coloranţii pentru păr (de unde pot fi absorbiţi prin pielea scalpului). Autorii care comunică cazuri de sindroame lupice posibil induse de unii din factorii menţionaţi conchid că aceştia declanşează boala mai probabil la persoane cu predispoziţie genetică şi recomandă ca membrii de familie ai bolnavilor cu boli ale ţesutului conjunctiv să intre într-o măsură cât mai mică în contact cu aceste toxice (21).

Expunerea la radiaţii ultraviolete (UV) se constituie în factor precipitant bine cunoscut al manifestărilor cutanate şi sistemice din LES. A fost raportată creşterea mortalităţii şi accelerarea fenomenelor autoimune la şoarecii BXSB expuşi la raze ultraviolete (20). Experimental au fost reproduse leziunile cutanate din lupus prin expunere la radiaţii UV, atât la animale cât şi la oameni. Iradierea cu UV a ADN poate determina fototransformarea acestuia într-o moleculă imunogenică (UV-ADN). Studiile de imunofluorescenţă au evidenţiat fixarea fracţiunilor imunoglobulinice (19) şi ale complementului în zonele dermice şi epidermice iradiate ca fiind similară cu imunofluorescenţa leziunilor lupice. Unii autori au demonstrat argumentarea „exprimării" la suprafaţa keratinocitelor a unor antigene celulare de suprafaţă după expunerea la UV. Cu toate aceste

date, radiația UV nu pare a fi considerată un factor de risc însemnat în geneza și dezvoltarea LES, ci mai degrabă un factor de agravare al leziunilor cutanate.

S-a studiat și rolul factorilor alimentari în LES. Foarte probabil că aceștia nu au rol cauzator, dar este sigur pot modifica cursul bolii. Un sindrom lupic a fost descris la animale de experiență (femele de maimuță) alimentate cu cantități crescute de lucernă (alfa-alfa). Reactivări ale lupusului au fost citate la bolnavi alimentați cu lucernă (între 12–24 tablete alfa-alfa). Lucerna este bogată în L-canavanină, un aminocid ce se comportă ca un analog competitiv al argininei, aminoacid esențial în sinteza proteinelor și enzimelor. Încorporarea L-canavaninei în histone în locul argininei duce la modificarea transcripției genetice urmată de sinteza de proteine anormale, adică de autoanticorpi (22). S-au urmărit de asemenea și alți aminoacizi izolați. Rezultate interesante s-au obținut cu fenilalanina și tirozina, care intră în ciclul de sinteză al acizilor nucleici. Dubois a raportat că alimente cu conținut redus în fenilalanină și tirozină, previn dezvoltarea bolii renale și prelungesc supraviețuirea la șoarecii (NZB×NZW) F1.

În ceea ce privește studiul grăsimilor ca factori alimentari declanșatori de tulburări imune, studiile sunt și mai bogate. Șoarecii alimentați hipercaloric și mai ales cu un regim bogat în grăsimi, atât saturate cât și nesaturate, dezvoltă un sindrom disimunitar mai exprimat și boala renală, cardiovasculară sau hematologică (anemie hemolitică autoimună) mai severă (23). Gradul de saturare al lipidelor pare să influențeze tipul reacțiilor imune. Acizii grași nesaturați au determinat sinteza autoanticorpilor citotoxici tip IgM, iar cei saturați a autoanticorpilor anti ADN tip IgG. Alimentația hiperlipidică influențează și imunitatea celulară în sensul că are efect imunosupresor asupra celulelor citotoxice naturale (*natural Killer*, NK) și reduce funcția fagocitară a macrofagelor. Este posibil ca intervenția lipidelor alimentare în imunitate să se facă prin intermediul acidului linoleic, un acid gras polinesaturat, precursor al acidului arahidonic din care se sintetizează prostaglandinele și leucotrienele, importanți mediatori ai reacțiilor inflamatoare.

La unii șoareci, dietele restrictive și mai ales cele hipolipidice modifică semnificativ severitatea bolii și întârzie momentul apariției modificărilor (auto) imune, respectiv al formării complexelor imune și de dezvoltare a bolii renale consecutive. Acești șoareci au titruri mai mici ale autoanticorpilor. Reducerea aportului caloric la 10 kcal/zi dublează timpul de viață al șoarecilor astfel alimentați. Pe de altă parte, dietele îmbogățite în acizi grași polinesaturați, cum este acidul eicosapentanoic, precursor minor al acidului arahidonic, a protejat animalele de experiență de dezordini imune precoce și de dezvoltarea nefritei prin complexe imune (24). Efectul a fost obținut chiar și la introducerea tardivă a uleiului în dietă, respectiv la 5 luni de la naștere.

La om manipularea dietetică a dus la rezultate similare. Postul cu reducerea în întregime a aportului caloric induce ameliorări clinice ale bolii după aproximativ 10 zile și în paralel determină normalizarea răspunsului

limfocitar la mitogeni, activitate iniţial diminuată (25). Această evoluţie a fost atribuită unei reduceri a activităţii prostaglandinei E2. Dietele care utilizează uleiul de peşte ca unică sursă de grăsimi, aşa cum sunt regimurile alimentare ale eschimoşilor, conţin acizi graşi polinesaturaţi (eicosapentaenoic şi docohexanoic) diferiţi de cei ce se află în alimentele vegetale sau provenite din animale terestre. La om utilizarea uleiului de peşte în diverse boli autoimune e dat rezultate încurajatoare. Simptomatologia s-a ameliorat simţitor permiţând reducerea consumului de prednison, dar acest rezultat subiectiv nu a fost susţinut de modificarea parametrilor obiectivi şi nici nu s-a menţinut după revenirea la alimentaţia iniţială (26). Numărul bolnavilor astfel trataţi a fost în general prea mic şi nu a permis concluzii definitive. Nu se ştie dacă o astfel de alimentaţie nu ar avea efecte nefaste pe termen lung (27).

Mecanismul de acţiune al acidului eicosapentaenoic în LES ar putea fi prin interferarea metabolismului acidului arahidonic pe care îl inhibă enzimatic, ceea ce întrerupe căile cicloxigenazei şi lipooxigenazei frânând astfel şi producţia PGE2 şi a leucotrienelor B4 pentru a introduce în circulaţie metaboliţi mai puţin activi. În plus acizii eicosapentaenoic şi docohexanoic sunt încorporaţi în neutrofile şi macrofage în caz de tratament prelungit inhibându-le funcţiile (mai ales chimiotactismul) (28). Acizii graşi polinesaturaţi prezenţi în uleiul de peşte au deci virtuţi antiinflamatoare şi posibil imunoregulatoare având un rol curativ şi mai ales preventiv în tratamentul unor boli autoimune. Este un subiect de cercetare de mare interes a căror aplicaţii practice ar putea să fie deosebit de interesante.

1.5. FACTORI HORMONALI

Frecvenţa crescută a LES la femeile aflate la vârste fertile nu mai este pusă la îndoială de nimeni. Această netă predominenţă feminină nu este la fel de evidentă la copii sau la vârstnici. Cazuri de LES au fost raportate la bărbaţi cu elemente de feminizare, aşa cum se întâlneşte în sindromul Klinefelter (cariotip XXY), dar comparând cu frecvenţa bolii în populaţia generală nu s-a putut susţine ceva mai mult decât o asociere întâmplătoare. S-au comunicat cazuri de LES agravate de sarcină (mai ales cele cu nefropatie activă) şi de tratamentul estrogenic. Dozările hormonale la femei cu LES evidenţiază o constelaţie hormonală modificată comparativ cu femeile fără boală (29). Anomaliile hormonale ale femeilor cu LES, ar putea fi astfel rezumate: a) creşterea hidroxilării la C16 a estronei, care determină creşterea titrurilor serice de estriol şi 16 hidroxiestronă; b) reducerea hidroxilării la C2

cu scăderea nivelului seric al 2 hidroxiestronei și 2 metoxiestronei; c) augmentarea oxidării la C17 a testosteronului. Ansamblul acestor modificări determină o hiperestrogenemie relativă cu hipoandrogenemie, ambele susceptibile să stimuleze LT inductoare și să slăbească funcțiile LT supresoare. Rolul protector al androgenilor și agravant al estrogenilor a fost pe larg demonstrat la șoareci NZB/NZW/F1 (30). Este deci logic să se încerce un tratament hormonal al maladiei lupice (31). La șoarecii NZB/NZW manipularea hormonală prin castrare sau tratament medicamentos modifică expresia autoimunității. Administrarea androgenilor ameliorează supraviețuirea și face ca nefrita să evolueze mai benign. Influențele hormonale nu sunt similare la toate modelele animale. La șoarecii MRL/1 ambele sexe dezvoltă o boală similară, iar la șoarecii BXSB boala apare mai ales la masculi, la care este și mai severă.

La om s-au făcut de asemenea tentative de tratament hormonal (19). Danazolul, un derivat sintetic de 17-alfa-etiniltestosteron, are o slabă activitate androgenică și se comportă mai ales ca un antiestrogen. Eficacitatea sa în tratamentul lupusului a fost demonstrată pe studii controlate demonstrând reducerea numărului puseelor bolii și permițând reducerea corticoterapiei. Acesta este un tratament al lupusului stabilizat nefiind aplicabil ca unul de atac. Încercări similare au fost făcute cu acetatul de ciproteronă (Androcur), cu rezultate similare danazolului. Alți antiestrogeni, ca tamoxifenul, nu și-au dovedit eficacitatea (31). Studii preliminare au sugerat că gradul de activitate al lupusului se reduce când femeile sunt tratate cu medicamente antigonadotropice. În concluzie până în prezent, hormonomodularea la om constă în utilizarea danazolului și acetatului de ciproteronă. Aceste produse antrenează ameliorări clinice, dar nu par să influențeze autoanticorpii. Ambele permit „economisirea” corticoizilor permițând reducerea dozelor și au efect contraceptiv, de asemenea important în boala lupică. Studiul factorilor hormonali deschide perspective terapeutice interesante, dar în același timp întăresc odată mai mult părerea că hormonii nu joacă un rol determinant în producerea LES dar că aceștia pot fi un factor de agravare și de întreținere a bolii.

1.6. FACTORI IMUNI

Practic fiecare compartiment al sistemului imun suferă în feluri diverse în LES. Este încă neclar care din multitudinea defectelor imunologice sunt primare și care sunt induse secundar. De exemplu, autoanticorpii antilimfocitari apar în LES mai probabil secundar alterării unor mecanisme normale

de toleranță. Odată produși acești anticorpi interacționează *in vivo* cu unele subpopulații limfocitare influențându-le funcția. Acești anticorpi pot exacerba defectul primar care le-a inițiat producția, crescând un cerc vicios de autoîntreținere. În aceste circumstanțe este practic imposibil a stabili care din anomalii este primară (tabelul 4).

Studiul imunității umorale și celulare la pacienți cu LES a dus la rezultate contradictorii și discordante. Diferențele nu interesează doar bolnavi diferiți ci chiar același bolnav în diverse perioade de evoluție, cu diferențe semnificative în titrul autoanticorpilor, numărul LB și LT circulante sau în funcția acestora. Studiul imunității celulare la pacienți cu LES prin imunizare cu diverși antigeni exogeni (Candida, Tricophyton, dinitro-clorbenzen-DNCB) frecvent nu induce sensibilizarea. Aceste observații pot explica variații de răspuns *in vivo* la diverși antigeni externi. În general, reacțiile de imunitate celulară sunt deficiente. În ceea ce privește reacțiile de imunitate umorală după unii autori sunt activate, după alții normale. Este cert că producția de imunoglobuline este crescută, toți pacienții cu LES activ au hipergammaglobulinemie și o gamă largă de autoanticorpi. Răspunsul umoral este cert crescut în ceea ce privește sinteza spontană a imunoglobulinelor, dar apare ca deficient în privința răspunsului la mitogeni (32).

Cele mai multe anomalii constatate la bolnavii lupici interesează relațiile interlimfocitare. Reacția limfocitelor în culturi autologe mixte a fost propusă ca model pentru studiul fenomenelor imunoreglatoare care apar între LT, LB și macrofage. La pacienți cu LES activ, reacția limfocitelor în culturi autologe mixte este aproape întotdeauna deficientă, în timp ce pacienți cu boală inactivă au răspunsuri aproape de normal. Răspunsul defectuos în boala activă este datorat atât reducerii populațiilor stimulatoare (LB, macrofage, celule dendritice), cât și populațiilor LT, în egală măsură inductor și supresor (33). Anomaliile constatate în culturile mixte autologice în LES activ contrastează cu răspunsul relativ normal evidențiat atunci când limfocitele din LES sunt cultivate cu limfocite allogenice. Această diferență în perturbarea autoreactivității cu păstrarea alloreactivității, sugerează că mecanismele celulare care răspund de fiecare din aceste reacții sunt diferite.

1.6.1. FUNCȚIILE LIMFOCITELOR B

Există multe elemente care pledează pentru rolul hiperreactivității LB în patogeneza LES. Multe limfocite din sângele periferic au pe membrana celulară fenotipuri indicatoare al unei maturări sau activări anormale. Astfel

LBCD5+ sunt crescute, ele semnificând mai ales celule imature secretante de autoanticorpi anti-ADN polispecifici de tip IgM. Hiperreactivitatea poate interesa și celulele mature care secretă auto-anticorpi anti-ADN specifici de tip IgG. Numărul LB producătoare de imunoglobuline este crescut (34). Cultivate *in vitro*, LB din LES secretă cantități mari de imunoglobuline în absența unor stimuli exogeni și procentul LB care secretă spontan anticorpi este mult crescut. Dacă aceleași LB sunt cultivate cu diverși mitogeni, ele se dovedesc deficiente atât în capacitatea de proliferare, cât și în capacitatea de a sintetiza imunoglobuline, fapte care ar putea explica o activare prealabilă.

Mulți dintre anticorpii sintetizați spontan de către LB din lupus sunt produșii policlonali ai unor gene ce codează sinteza imunoglobulinelor, unii reacționând cu structuri *self* (autoanticorpi), alții acționând împotriva structurilor *non-self.* Unii anticorpi par să fie sintetizați ca urmare a unei stimulări antigenice (virale? medicamentoase? radiante?) specifice și excesive. Este probabil că atât activarea antigen specifică, cât și cea policlonală apar și intervin în egală măsură în LES. Această hiperactivitate a LB este secundară și pare a fi determinată și strâns legată de tulburări ale funcției LT, cu eliberare de interleukină 5 (IL-5). LB, la rândul lor, secretă o serie întreagă de citokine care acționează ca factori de creștere pentru alte LB asigurând întreținerea procesului (35).

1.6.2. FUNCȚIILE LIMFOCITELOR T

Modificările funcționale ale subpopulațiilor de LT sunt mult mai puțin unitare.

Există mai multe dovezi asupra unei hiperreactivități a LT. În LES activ este crescut numărul unor subpopulații limfocitare cu structuri proteice de suprafață care sugerează activarea LT. Sunt crescute LT circulante ce secretă factori solubili respectiv limfokine de tipul interleukinei 4 (IL-4), care stimulează LB. Această activare este demonstrată de creșterea nivelului m-ARN codat de unele proto-oncogene (c-myc, c-myb, c-raf) atât în LT cât și în LB. LT inductoare (CD4+) joacă un rol central în patogeneza lupusului murin, (mai ales la șoarecii MRL/1). Oamenii cu LES au un procent crescut al LT CD29+ (4B4+) care sunt LT inductoare cu memorie (37).

Datele care atestă activarea LT sunt în contrast cu observația că în LES LT sunt deficiente. Desigur că așa cum activarea interesează unele populații limfocitare (cele inductoare), deficiența interesează populațiile cu acțiune supresivă (38). Activitatea LT supresoare a fost mult studiată *in vitro*. Dacă boala este activă este prezentă limfopenia, care interesează mai ales subpo-

pulațiile supresoare (CD8+). LT ale bolnavilor lupici sunt incapabile să inhibe atât proliferarea LB (policlonală și cea prin mitogeni), cât și diferențierea și activarea LT. LT sunt deficiente în primul rând în producția interleukinei-2 (IL-2), principala citokină care asigură relația interlimfocitară (39). Defectul funcției supresoare se datorează incapacității LT de a genera semnale supresoare prin limfokine și nu celulelor țintă de a răspunde la aceste semnale. Defectul celulelor supresoare nu a fost observat de toți cercetătorii, în timp ce alte studii documentează scăderea activității supresoare chiar și la rudele asimptomatice ale pacienților cu LES.

În contrast ceea ce se credea până în urmă cu câțiva ani, se pare că nu la nivelul LT se află defectul celular primitiv. Este mai probabil că defectul LT este secundar acțiunii anticorpilor antilimfocitari, dar este extrem de important în întreținerea procesului prin „ridicarea" principalelor frâne fiziologice în secreția autoanticorpilor (40).

În concluzie, există argumente care pledează pentru hipoactivitatea LT în LES, dar există și elemente în favoarea unei activări a altor subpopulații limfocitare (41). Aceste fapte aparent contradictorii se datorează mai probabil „prăbușirii" mecanismelor de control și autocontrol ce se realizează după debutul bolii. Activarea unor LT este susținută prin; a) creșterea proliferării spontane, b) augmentarea procentului LTCD4+ și CD8+ la pacienții cu boală activă, c) intensificarea producției spontane de citokine și d) creșterea nivelului seric al receptorilor solubili ai IL-2 eliberați de celule activate (42). Deprimarea LT și incapacitatea lor de a răspunde la unii stimuli este secundară și probabil consecutivă faptului că celulele activate sunt refractare la stimulări ulterioare.

1.6.3. FUNCȚIA CELULELOR CITOTOXICE NATURALE

Activitatea celulelor NK este diminuată la majoritatea pacienților cu LES (43). Interferonul și IL-2 sunt buni inductori *in vitro* ai activității NK, dar aceste celule par să nu răspundă deloc sau insuficient la influența activatoare ale limfokinelor la pacienții cu LES (44). Bolnavii lupici posedă un număr normal de celule NK inactive, dar unul mult redus al celulelor NK active, citotoxice (CD16+), capabile să îndepărteze celule infectate sau tumorale. Defectul celulelor NK are semnificație și pentru disfuncția LB, deoarece primele sunt principalele reglatoare a funcției LB. Unele studii sugerează că expunerea prelungită la alfa-interferon (alfa-IF) reduce funcția NK și că pacienții cu LES au nivele constant crescute ale alfa-IF (45).

1.6.4. FUNCȚIILE MONOCITARE

Proliferarea precursorilor celulelor monocitare este crescută la pacienții cu LES, dar capacitatea lor fagocitară este scăzută (46). Funcția de celule accesorii a monocitelor este redusă și astfel scade răspunsul proliferativ la mitogeni. Probabil că factorii răspunzători de aceste defecte includ și producția excesivă de prostaglandine și scăderea exprimării la suprafața celulară a antigenelor CMH de clasa a II-a. Defectul funcției monocitare permite depunerea tisulară a complexelor imune circulante (vezi patogeneza).

Odată cunoscute aceste elemente de etiopatogeneză imună a fost deschisă în ultimii ani perspectiva imunoterapiei specifice. Un mijloc terapeutic interesant ar putea fi cel cu anticorpi monoclonali împotriva LT. Administrarea anticorpilor monoclonali anti-L_3-T_4 (echivalentul la șoarece a anticorpilor anti-T-CD_4 umani) la femelele (NZB/NZW)F_1 de 4 luni întârzie boala renală, diminuă sinteza de autoanticorpi anti ADN nativ și prelungesc supraviețuirea. Numărul LT-3-T_4 din sângele periferic se reduce sub tratament cu 30% în 24 de ore și cu 90% într-o săptămână. Acțiunea acestor anticorpi se exercită prin depleția populațiilor LT din sângele periferic precum și prin blocajul specific al moleculelor membranale corespunzătoare (47). La om au început să se utilizeze anticorpi monoclonali anti-T-CD4+, dar și alții îndreptați împotriva altor structuri de suprafață: CD5+, CD7+, CD25+ etc., în poliartrita reumatoidă, dar tendința este să fie utilizați și în alte boli autoimune, pe măsură ce patogeneza lor este descifrată. Până acum rezultatele sunt încurajatoare. Tratamentul este bine tolerat, dar deocamdată loturile sunt mici, bolnavii neselecționați corespunzător, rezultatele pe termen lung necunoscute și, în consecință, locul acestuia în terapia reumatologică nu este încă precizat (48).

Un mijloc terapeutic mai specific ar putea fi vaccinarea anti-LT. Interesul metodei este major, dar deocamdată se află în stadiul experimental. S-a dovedit pe modele animale că este posibilă o vaccinare autoimună administrând doze subpatogene de LT specifice. Acest tratament ameliorează reacțiile autoimune prin generarea de celule T anticlonotipice care inhibă LT autoreactive ale bolnavilor (49). Este necesar să avem LT specifice împotriva antigenului declanșator pentru ca „vaccinarea" să fie eficace, dar în bolile autoimune antigenul este încă necunoscut. Este însă posibil să fie caracterizate LT fără cunoașterea antigenului (49). Vaccinarea anti-T va bulversa probabil în următorii ani tratamentul maladiilor autoimune.

În unele boli autoimune, mai ales în LES și miastenie, au fost descriși anticorpi spontani anti-idiotip. Existența unei corelații inverse între titrul seric al anticorpilor anti-idiotip și anticorpii anti-ADN nativ în LES este un

argument în favoarea rolului celor dintâi în modularea răspunsului imun în această boală (50). Ar fi o perspectivă terapeutică foarte interesantă dar deocamdată prea puțin cunoscută.

Există mijloace imunomodulatoare care privesc în primul rând limfocitele, mai puțin specifice, dar utilizate deja în clinică pe scară mult mai largă. Iradierea limfoidă totală se face după tehnicile folosite în tratamentul limfoamelor. Au fost tratate câteva cazuri de lupus cu nefropatie severă cu rezultate care s-au concretizat în ameliorarea semnificativă a nefropatiei și reducerea la jumătate a dozei de steroizi. Iradierea limfoidă totală antrenează o limfopenie constantă și prelungită care interesează mai ales LT auxiliare, confirmând astfel rolul acestora în imunopatogeneza bolii. Drenajul canalului toracic a fost de asemenea încercat în câteva cazuri de lupus. Acest procedeu determină ameliorarea clinică, paralel cu deprimarea răspunsului imun celular și, în mai mică măsură, a celui umoral. Efectul persistă cel mult câteva săptămâni de la manevră. De efecte similare se bucură și serurile antilimfocitare, care ca și celelalte metode menționate vizează mai ales LT. Imunodepresia obținută cu seruri antilimfocitare este rapidă și relativ selectivă, interesând mai ales imunitatea celulară. Au fost comunicate câteva cazuri cu rezultate clinice interesante (52). Aceste mijloace de imunoterapie nespecifică au fost sau vor fi în scurtă vreme înlocuite de mijloacele de imunoterapie specifică care încep să apară.

1.6.5. CITOKINELE

Citokinele, molecule solubile care reglează creșterea și funcția diverselor celule imune, sunt un subiect mai recent de cercetare în etiopatogeneza LES. De la început au fost studiate separat producția spontană de citokine și producția după stimulare *in vitro* (54). În general se poate afirma că producția spontană de citokine este crescută, în timp ce producția acelorași citokine după stimulare este redusă. În principal este vorba despre interleukina 1 (IL-1), interleukina 2 (IL-2), interleukina 6 (IL-6) și interferonul gamma (IF-gamma) (57).

Monocitele produc atât IL-1, cât și antagonistul acesteia. Secreția de IL-1 de către monocitele proaspăt izolate este crescută, în vreme ce secreția acesteia de către monocite stimulate este redusă ca și nivelul antagonistului IL-1 (53). O cale posibilă de cercetare cu scop terapeutic ar putea fi deci antagonistul IL-1 (19).

Interleukina-2 (IL-2) pare a fi crescută *in vivo* la pacienții cu LES (42). Producția de IL-2 de către limfocitele în prealabil stimulate este, în schimb, redusă. Unii autori au considerat acest defect caracteristic și corelabil cu gradul de activitate al bolii, iar alții au evidențiat niveluri scăzute și în fazele

de latență ale LES (55). În tratament s-au utilizat anticorpii antireceptor al IL-2 care realizează o imunodepresie care interesează în primul rând celulele care au acest receptor. Acest tratament are un efect favorabil asupra glomerulonefritei șoarecilor (NZB/NZW)F_1. Indicațiile pentru un astfel de tratament ar fi unele neoplazii, grefele și bolile autoimune. Deocamdată metoda a fost încercată numai în cancerologie.

Interferonul gamma (IF-γ) reglează exprimarea antigenelor HLA pe celulele imune, inhibă proliferarea limfocitară și are efecte semnificative asupra producției de anticorpi (54). În LES nivelul IF-γ secretat de celulele stimulate este normal sau redus. Tentativa terapeutică imunomodulatoare cu IF-γ recombinat este deci o concluzie firească. Administrarea IF-γ la șoarecii (NZB/W)F1 agravează însă nefropatia, în timp ce injectarea anticorpilor monoclonali anti-IF-γ întârzie afectarea renală, dar declanșează artrita. Aceste date ilustrează paradoxul unor aspecte ale imunomodulării terapeutice în reumatologie. Ca urmare a datelor oferite de modelele experimentale ar trebui folosiți în terapie mai degrabă anticorpii anti-IF-γ. Cu toate acestea, datele clinice publicate până astăzi demonstrează efectul favorabil al tratamentului cu IF-γ la bolnavi cu boli autoimune (mai ales poliartrită reumatoidă, dar și LES). Desigur sunt necesare studii complementare pentru a preciza locul exact al acestui tratament în terapia reumatologică (19). Nivelele serice ale interferonului alfa sunt crescute în LES.

Limfocitele bolnavilor cu LES produc în cantități mari factori de creștere care promovează creșterea și diferențierea celulară, mai ales a LB. Studiul lor este în plină desfășurare (36). Este sigur că pentru producerea bolii nu este suficientă doar creșterea acestor citokine, ci este necesar și defectul intrinsec al LB care sunt hiperreactive.

2. PATOGENEZĂ

2.1. BOALA COMPLEXELOR IMUNE

Deși etiologia LES rămâne încă obscură, este limpede că multe din leziunile tisulare și în special cele de la nivelul vaselor de sânge și al rinichiului sunt determinate de depunerea tisulară a complexelor imune. De altfel, lupusul este în general considerat a fi prototipul bolilor prin imunocomplexe

la om. Reacţia antigen-anticorp determină formarea unor complexe macromoleculare solubile (fig. 2). Acestea se depun în ţesuturi din motive mai degrabă anatomice şi fiziologice decât imunologice. De aceea proprietăţile fizice ale complexelor imune au o mare importanţă. Mărimea şi solubilitatea acestora, concentraţia şi abilitatea de a lega şi activa sistemul complement ca şi alte proprietăţi sunt caracteristici importante (56).

Iepurii care primesc într-o singură injectare intravenoasă cantităţi mari de proteine plasmatice sau ser străin vor forma în câteva zile anticorpi împotriva proteinei injectate. Când aceşti anticorpi sunt eliberaţi în circulaţie întâlnesc antigenul în exces şi formează complexe solubile. Cu cât cantitatea anticorpilor este mai mare cu atât se vor forma complexe mai multe şi mai mari. Majoritatea sunt rapid înlăturate din circulaţie de sistemul reticulo-endotelial dar unele se depun în endoteliul vascular şi în glomerulii renali. Odată depozitate în ţesuturi, complexele interacţionează cu elemente celulare şi umorale locale determinând modificări caracteristice biochimice, morfologice şi farmacologice. Capacitatea inflamatoare remarcabilă a acestor complexe este dovedită de faptul că numai 20 μg de antigen sunt suficiente pentru declanşarea unei glomerulonefrite severe (7). La administrarea repetată de proteine străine unii iepuri răspund prin formarea de anticorpi şi apoi de complexe solubile cu dezvoltarea glomerulonefritei, în timp ce alţii, deşi formează cantităţi mari de anticorpi, nu dezvoltă nici complexe şi nici nefrită (57).

Există o serie de factori care influenţează depunerea complexelor imun circulante. Dimensiunea complexelor imune circulante este un factor de luat în seamă, deoarece complexele foarte mici nu sunt depozitate, iar cele mari sunt în primul rând fagocitate şi îndepărtate. Cele de dimensiuni intermediare rămân cele mai susceptibile la depozitare tisulară (58).

Unele proprietăţi fizicochimice ale antigenelor şi anticorpilor, ca încărcarea electrică, valenţa, tăria legăturii dintre antigen şi anticorp, sunt alte elemente care influenţează depunerea complexelor. De exemplu, complexele care conţin antigene cationice se leagă cu precădere de componentele membranei bazale glomerulare care sunt încărcate electric negativ. Aceste complexe produc în general leziuni tisulare severe şi de durată (58). Tăria legăturii dintre antigen şi anticorp este responsabilă de stabilitatea complexului. Anticorpii cu afinitate redusă se leagă mai slab şi de un număr mai mic de locusuri de la nivelul antigenului în comparaţie cu anticorpii precipitanţi. Antigenele legate de anticorpi cu afinitate redusă sunt eliminate mai încet din circulaţie şi deci, teoretic, au o şansă mai mare de a produce leziuni tisulare (56).

Depozitarea complexelor imune circulante se face invers proporţional cu abilitatea gazdei de a le elimina din circulaţie. Complexele sunt în mod

normal eliminate din sânge de sistemul fagocitar al mononuclearelor și rata eliminării lor este un factor important în lezarea tisulară. Fagocitarea materialelor „învelite” cu anticorpi sau a complexelor antigen-anticorp este precedată de legarea de fracțiunea Fc sau de receptorii pentru complement de pe suprafața celulelor mononucleare specializate (celule Kuppfer hepatice, macrofage alveolare, celule înșirate de-a lungul sinusoidelor splenice, macrofage circulante sau din alte țesuturi etc.). Funcția și expresia acestor receptori poate fi modulată de mulți agenți, cum ar fi lipopolizaharidele, limfokinele, interferonii, glucocorticoizii și chiar complexele antigen-anticorp. Depășirea capacității de *cleareance* a sistemului macrofagic duce la depunerea tisulară a complexelor. Rata *cleareance*-ului este mult prelungită la pacienții cu LES activ, mai ales la cei cu boală renală activă. Pe de altă parte, pacienții cu defect genetic a unor proteine din calea clasică a complementului, cum sunt C_2 și C_4, dezvoltă adesea boli prin depozitare de complexe imune, deoarece defectul de sinteză a C_{3b} duce la alterarea eliminării complexelor. Au fost descrise trei tipuri de receptori C_3, dar probabil cei mai implicați în *cleareance*-ul complexelor imune circulante sunt tipul 1 sau receptorul C_{3b}/C_{4b} (59). Mastocitele, celulele podocitare glomerulare și marea majoritate a celulelor circulante (și mai ales hematiile) au receptori C_{3b}. Celulele bolnavilor cu LES au o reducere importantă a numărului și funcției receptorilor, fie determinată genetic, fie câștigată. Imposibilitatea acestor celule de a lega complexe imune poate determina o creștere a acestora în circulație, a afluxului către ficat și splină cu supraîncărcarea și disfuncția sistemului mononuclear-fagocitar (46).

O serie de factori anatomici și hemodinamici sunt importanți pentru depozitarea complexelor imune circulante. Orice alterare a permeabilității capilarelor poate crește depunerea complexelor. Capilarele glomerulare renale și sinoviale sunt vase în care plasma este ultrafiltrată (pentru a forma urina sau lichidul sinovial) prin trecerea prin peretele capilar sub acțiunea presiunii hidrostatice și de aceea acesta este sediul la care frecvent se depun complexe imune (58).

În sfârșit, complexele imune se leagă de celulele inflamatoare și stimulează secreția de citokine și mediatori vasoactivi (histamină, serotonină) care cresc permeabilitatea vasculară și favorizează depunerea complexelor în pereții vasculari prin lărgirea spațiilor interendoteliale. Experimental, administrarea de histamină și serotonină determină creșterea depunerii endoteliale a carbonului coloidal la șoareci și a complexelor imune la cobai și iepuri. Consecința terapeutică este că antihistaminicele și antiserotoninergicele reduc severitatea bolii serului la iepuri, influențează favorabil glomerulonefrita șoarecilor NZB și au efect protector împotriva bolii serului și a altor boli ce se realizează prin același mecanism la om.

Deci, mărimea şi unele proprietăţi fizico-chimice ale complexelor imune circulante, ca şi condiţiile hemodinamice locale sau starea sistemului macrofagic sunt elemente mai importante pentru declanşarea bolii (mai ales pentru nefrotoxicitate) decât cantitatea absolută a complexelor imune circulante.

2.2. CRIOGLOBULINELE

Titrul de proteine precipitabile la rece (crioglobuline) în ser este strâns legat cu activitatea LES şi cu hipocomplementemia. Aceste crioglobuline conţin IgG, IgM, fragmente ale complementului (C_{1q}, C_4, C_3). Fracţiunile IgM au activitate de factor reumatoid, iar crioproteinele izolate fixează complementul *in vitro.* Pentru ca crioprecipitatul să aibă valoare patogenetică, el trebuie să conţină complexe imune mult mai concentrate decât în ser. În crioglobulinele din LES s-au evidenţiat anticorpi diverşi: anti ADN dublu catenar (dsADN), monocatenar (ssADN), antiribonucleoproteine (n-RNP). Unele crioprecipitate conţin anticorpi anti ADN legaţi de alţi autoanticorpi şi probabil reprezintă complexe imune de tip idiotip-antiidiotip. Crioprecipitatele din LES par să conţină şi antigene limfocitare şi ale ţesuturilor neuronale, deoarece imunizarea şoarecilor cu crioprecipitate determină producţia de anticorpi care reacţionează cu limfocite (atât la normali, cât şi la bolnavii lupici) şi cu celule neuronale şi gliale din culturi celulare (61).

2.3. ANTICORPII ANTILIMFOCITARI

Anticorpii limfocitotoxici au fost evidenţiaţi în serul a cel puţin 80% din pacienţii cu LES şi reacţionează atât cu limfocitele autologe cât şi cu limfocite provenite de la donatori sănătoşi. Chiar dacă rolul acestor anticorpi *in vivo* nu este încă pe deplin elucidat, multe din anomaliile funcţiilor limfocitare existente în LES pot fi reproduse prin incubarea anticorpilor antilimfocitari cu limfocite normale. Unii, ca de exemplu anticorpii „la rece" IgM, sunt

citotoxici, alții, mai ales aparținând clasei IgG, interferează în alte moduri cu funcția limfocitară. Studii de absorbție evidențiază faptul că serul majorității bolnavilor cu lupus conține un amestec de anticorpi anti-LB-specifici și anti-LT-specifici, ca și anticorpi încrucișați împotriva unor structuri prezente atât la suprafața LT, cât și pe suprafața LB. Anticorpii antilimfocitari pot perturba sistemul imun pe mai multe căi, atât prin îndepărtarea celulelor țintă (deci a limfocitelor) din circulație, cât și prin legarea de suprafața lor cu influențarea funcției acestora (62).

Tabelul 4

Tulburări imune în LES

Populații limfocitare
- reducerea numărului LT, LB și NK circulante la pacienți cu boală activă

Limfocitele B
- coloniile producătoare de LB crescute în măduva osoasă
- LB nestimulate proliferează și secretă anticorpi în exces
- LB hiperreactive la factori de creștere sintetizați de LT

Limfocitele T
- reducerea răspunsului LT mitogeni, antigeni solubili și antigene CMH de clasa a II-a
- scăderea răspunsului cutanat la antigeni externi
- prin contrast, evidențe ale unei activări persistente a LT
- LT activate nu mai răspund la stimulări ulterioare

Celule NK
- redusă activitatea

Monocite
- defecte în fagocitoză; reducerea funcțiilor celulelor accesorii

Citokine
- creșterea producției spontane de citokine (IL-1, IL-2, IL-6, IF gamma)
- reducerea producției după stimulare „in vitro" (IL-1, IL-2, IL-6, IF gamma)

Defectul LT supresoare este una din cele mai constante descoperiri în LES. De aceea a fost important de demonstrat dacă anticorpii antilimfocitari au capacitatea de a inactiva sau distruge LT supresoare. Unii anticorpi anticorpi antilimfocitari pot distruge populațiile celulare precursoare ale celulelor supresoare. Alți anticorpi reacționează aproape numai cu populațiile *helper* (CD_4+) și răspund de depleția celulelor CD_4+ la unii bolnavi cu lupus. Există de asemenea anticorpi antilimfocitari specifici împotriva unor LT activate și a produșilor lor de secreție. Acești anticorpi, ce acționează asupra celulelor activate, proliferate, pot inhiba expansiunea clonală, fie prin acțiunea asupra interleukinelor, fie asupra unor structuri moleculare de pe suprafața celulară, fapt care perturbă semnificativ sistemul imun.

Pentru a înţelege pe deplin aceste mecanisme patogenetice este imperioasă definirea şi caracterizarea antigenelor celulare de pe suprafaţa celulelor limfoide, antigene ce sunt primele structuri recunoscute de anticorpii antilimfocitari. Au fost descrişi pe rând anticorpi antilimfocitari îndreptaţi împotriva diverselor antigene asociate MHC ca HLA-A, B şi C, β_2 microglobulina, antigenul I_a sau unor structuri non-HLA (tabelul 5). Pe de altă parte s-au evidenţiat şi reacţii încrucişate astfel încât unii anticorpi antilimfocitari reacţionează şi cu diverşi constituenţi ai nucleului celular şi cu unele structuri de suprafaţă ale celulelor sistemului nervos central. Aceştia din urmă sunt importanţi în patogeneza manifestărilor neurologice ale LES. Caracterizarea structurilor de suprafaţă ce sunt ţinta anticorpilor antilimfocitari este o sferă majoră de cercetare şi controversă în etiopatogeneza LES (7, 57, 62).

Tabelul 5

Anticorpi antilimfocitari în LES

Antigene celulare de suprafaţă	Antigene tisulare
HLA – HLA A, B, C – beta 2 microglobulina – Ia Non-HLA – antigene limfocitare de suprafaţă necunoscute LT sau LB – celule leucoză cronică limfocitară – linii celulare limfoide – limfoblaşti Subseturi LT – CD4+ – CD8+	– Antigene nucleare – Antigene de suprafaţă pe celulele sistemului nervos central – Antigene trofoblastice – Proteina şocului termic (Heat shock proteins)

2.4. ANTICORPII ANTINUCLEARI

Markerii serologici ai LES sunt anticorpi îndreptaţi împotriva unei varietăţi largi de componente nucleare – anticorpi antinucleari (AAN). Studiul mai aprofundat al subclaselor de AAN va contribui probabil la o mai

bună delimitare a diferitelor tipuri de LES și a altor boli autoimune înrudite. Studiul AAN a fost foarte util pentru aprofundarea cunoştinţelor despre structura și funcția constituenților nucleari și perinucleari împotriva cărora sunt îndreptați. Studii biochimice și morfologice, utilizând tehnici imunoelectronomicroscopice au evidențiat că determinanții antigenici se găsesc în 1) cromatina organizată în nucleosomi; 2) în matricea nucleară și 3) în nucleoli. Anticorpii antinucleohistone (complexe nucleoproteice formate între ADN și histone) au fost primii autoanticorpi descoperiți la pacienții cu LES și s-a demonstrat că răspund de fenomenul lupic. Ulterior o multitudine de antigene nucleare și perinucleare s-au evidențiat (tabelul 6). Semnificația

Tabelul 6

Antigene nucleare și perinucleare

1. Antigene cromozomiale (nucleosomale)

- ds sau nADN (ADN nativ)
- ss sau dADN (ADN denaturat)
- histone (H1, H2A, H2B, H3, H4)
- dezoxiribonucleoproteine-complexe ADN-histone (DNP)

2. Antigene nucleare extractibile (ENA), solubile, nucleocitoplasmatice

a) complexe ribonucleoproteice nucleare – snRNP (small nuclear RNP)= U–RNP (Uridine rich–RNP)

- U1–RNP–(uRNP)–U1ARN–p 70; 33; 22KD
- Sm (Smith)–(U1, U2, U4, U5, U6)–ARN – p 28/29, 16, 13

b) complexe ribonucleoproteice citoplasmatice–scRNP (small citoplasmic RNP)– Y–RNP

- SS–A/Ro (YARN+p 60 KD)
- SS–B/La (ARN pol 111+p 48KD)

3. Antigene nucleolare–rARN și proteine asociate

- NOR-Ag (nucleolus organizer region) –p 89/93 KD
- ARN pol 1
- ADN topoizomeraza 1 (Scl–70)
- U3 sn RNP (fibrilarina)
- To–p 40 KD asociată 7–2/8–2-ARN
- PM1–(PM-Scl) p -70 KD

4. Antigene dependente de ciclul celular

- centromer și kinetochor
- MSA
- centrioli
- PCNA ciclic

patogenetică a multora dintre acestea este încă discutabilă, dar anticorpii anti-ADN joacă sigur un rol în leziunile determinate de complexele imune (tabelul 7).

Tabelul 7

Autoanticorpi în LES

Antigen	Frecvența	Alte boli	Asocieri clinice	Asocieri și reacții încrucișate
– ADN nativ (dsADN)	80%	– rari caracteristic LES	Boală renală	– trombocite
– ADN denaturat (ssADN)	90%	– frecvent în boli reumatologice		– heparan sulfat – proteoglicani – trombocite
– IgG (factor reumatoid)	30%	– poliartrită reumatoidă		– histone – Ro/SSA
– Ro/SSA	50%	– sindrom Sjögren, – lupus neonatal, – lupus cutanat subacut – bloc atrioventricular complet congenital	Boală renală, cutanată, pulmonară Defect C_2	– factor reumatoid
– La/SSB	15%	– sindrom Sjögren		– Ro/SSA
– Sm	35%			– U1RNP
– U_1 RNP	50%		Boală sistem nervos central	
– Histone	40%	– lupus medicamentos		
– Lipide (cardiolipine) (cardiolipine)			Accident vascular cerebral, avorturi, coree	– fosfolipide – ADN
– Hematii	10–50%	– anemie hemolitică autoimună	Anemie	– ADN
– Trombocite	10%	– purpură trombotică trombocitopenică	Hemoragii	
– Limfocite	50%		Psihoze	
– Proteina P ribosomală				
– Celule neuronale	40%		Boală neurologică	

Anticorpii anti-ADN – dublu catenar (dsADN) sunt întâlniți cu predilecție în sângele bolnavilor cu LES. Dimpotrivă anticorpi anti-ADN monocatenar (ssADN), deși frecvent întâlniți în LES, sunt adesea întâlniți și în alte

boli. Antigenele cu care acești anticorpi reacționează formând complexe, sunt încă o problemă de dezbătut și de interes maxim. Cu ajutorul anticorpilor monoclonali anti-ADN, atât murini cât și umani, a fost posibilă o analiză corectă a legăturilor pe care aceștia le realizează (63). Anticorpi anti-ADN se pot lega și de structuri non-ADN, ca fosfolipidele, proteoglicanii, IgG, diverse proteine nucleare, elemente ale citoscheletului și diverse antigene celulare de suprafață. Aceste descoperiri au dus la o serie de posibilități interesante: posibil că anticorpii anti-ADN reprezintă răspunsul la un imunogen care este altul decât ADN-ul în sine; anticorpii anti-ADN pot fi patogeni prin interacțiunea lor cu alți antigeni – de exemplu prin legarea de membranele bazale sau prin formarea de complexe imune cu material non-ADN. Atât timp cât anticorpii anti-ADN au o acțiune antilimfocitară, antineuronală și anticardiolipină, se pare că răspunsul imun în LES este mult mai monomorf decât s-a crezut. Deci, deși prezența acestor anticorpi în serul bolnavilor cu LES, obligatorie și extrem de caracteristică pentru boală nu este suficientă pentru a pune acești anticorpi în centrul patogenezei lupusului. Au fost identificate mai mult de 20 idiotipuri de anticorpi anti-ADN. Consecințele clinice ale prezenței anticorpilor anti-ADN purtători a acestor idiotipuri rămân deocamdată neclare (64).

Studii seriate asupra unor anticorpi anti-nucleoproteine evidențiază relații clare între concentrația lor serică și activitatea bolii. Titrul anticorpilor anti-dsADN se corelează cel mai bine cu hipocomplementemia și nefrita activă. Acești anticorpi pot fi atât IgG, cât și IgM și se pare că cei cu IgM fac nefrită mai rar. Există și alte diferențe de ordin calitativ între acești autoanticorpi, în așa fel încât cei care precipită și leagă ADN-ul au șanse mai mari să producă nefrită decât anticorpii care numai precipită ADN-ul dar nu formează complexe imune solubile. De asemenea anticorpii anti-ADN care determină mai frecvent nefrită sunt mai ales din categoria celor fixatori de complement (64).

Elementele amintite – complexe imune circulante, anticorpii antilimfocitari, anticorpii antinucleari, crioglobulinele – ca elemente centrale ale patogenezei LES și principali efectori ai leziunilor (fig. 2), pot fi îndepărtate prin diverse procedee de plasmafereză. Plasma epurată este înlocuită de plasmă proaspătă congelată sau de albumină purificată. Unele tehnici permit o criofiltrare care elimină crioglobulinele, unele complexe imune și factori reumatoizi. S-au încercat și metode de absorbție specifică, în care plasma bolnavă este trecută prin coloane unde antigenul, anticorpul sau complexele de eliminat sunt adsorbite și fixate pe baza afinității. Unii autori au demonstrat posibilitatea eliminării anticorpilor anti-ADN din lupus prin adsorbbția pe o coloană de ADN (19). Aceste procedee de epurare imunologică au încă indicații limitate. Există riscul recăderilor severe după întreruperea lor și deocamdată ele se folosesc doar izolat și asociat unui tratament imunodepresiv clasic.

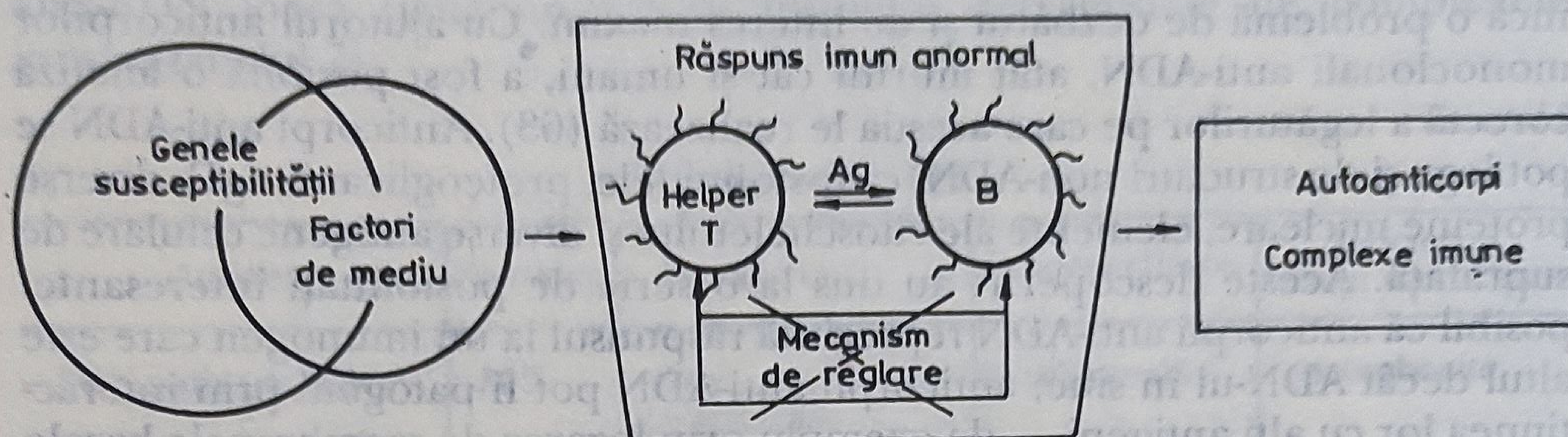


Fig. 2. Privire de ansamblu asupra patogenezei lupusului eritematos sistemic (LES). Interacțiunea dintre factorii genetici și peristatici duce la un răspuns imun alterat. Acesta constă din acțiunea stimulatoare a unor celule T hiperactive asupra unor celule B hiperactive, cu activarea policlonală și stimularea specifică prin antigeni a ambelor. Mecanismele inhibitoare sunt alterate la acești bolnavi. Rezultatul este formarea excesivă de autoanticorpi, dintre care unii formează complexe imune care se depozitează în țesuturi inițiind alterările caracteristice LES (după Dubois, 1993).

Un alt mijloc imunomodulator ce pare să influențeze mai ales această etapă a depunerii complexelor imune sunt imunoglobulinele. Mecanismul lor de acțiune este deocamdată prea puțin cunoscut. Injecțiile cu doze mari de imunoglobuline pot interfera cu *cleareance*-ul complexelor imune blocând sistemul mononuclear macrofagic, mai probabil prin interferența cu fragmentul Fc al imunoglobulinelor. Pe de altă parte există o competiție la nivelul receptorilor celulari de suprafață între autoanticorpi și imunglobulinele exogene. În al treilea rând, imunoglobulinele transformă complexele imune solubile în complexe mai voluminoase care sunt mai degrabă fagocitate și îndepărtate. Acest tratament acționează și prin mecanismul idiotip-anti-idiotip, deoarece imunoglobulinele injectate conțin anti-idiotipi care recunosc unii idiotipi ai autoanticorpilor. Protocolul utilizat de obicei folosește imunglobuline sanguine (Sandoglobuline^{R}) sau placentare (Venoglobuline^{R}) administrate zilnic timp de 5–7 zile. Acțiunea se instalează rapid, în aproximativ 30 minute (65).

În concluzie, atât factori genetici cât și de mediu sunt implicați în etiopatogeneza LES, determinând alterări imune complexe. Chiar dacă hiperreactivitatea LB este constantă determinând hipergamaglobulinemie și sinteza de autoanticorpi, debutul modificărilor pare a fi mai degrabă la nivelul LT cu pierderea memoriei reglării *self*, fapt ce determină proliferarea de clone LT helper și de LB ce sintetizează autoanticorpi. Odată aceste elemente apărute, distorsiunea mecanismelor homeostatice susține și întreține hiperreactivitatea LB (fig. 3). Lezarea propriu-zisă se realizează prin intermediul

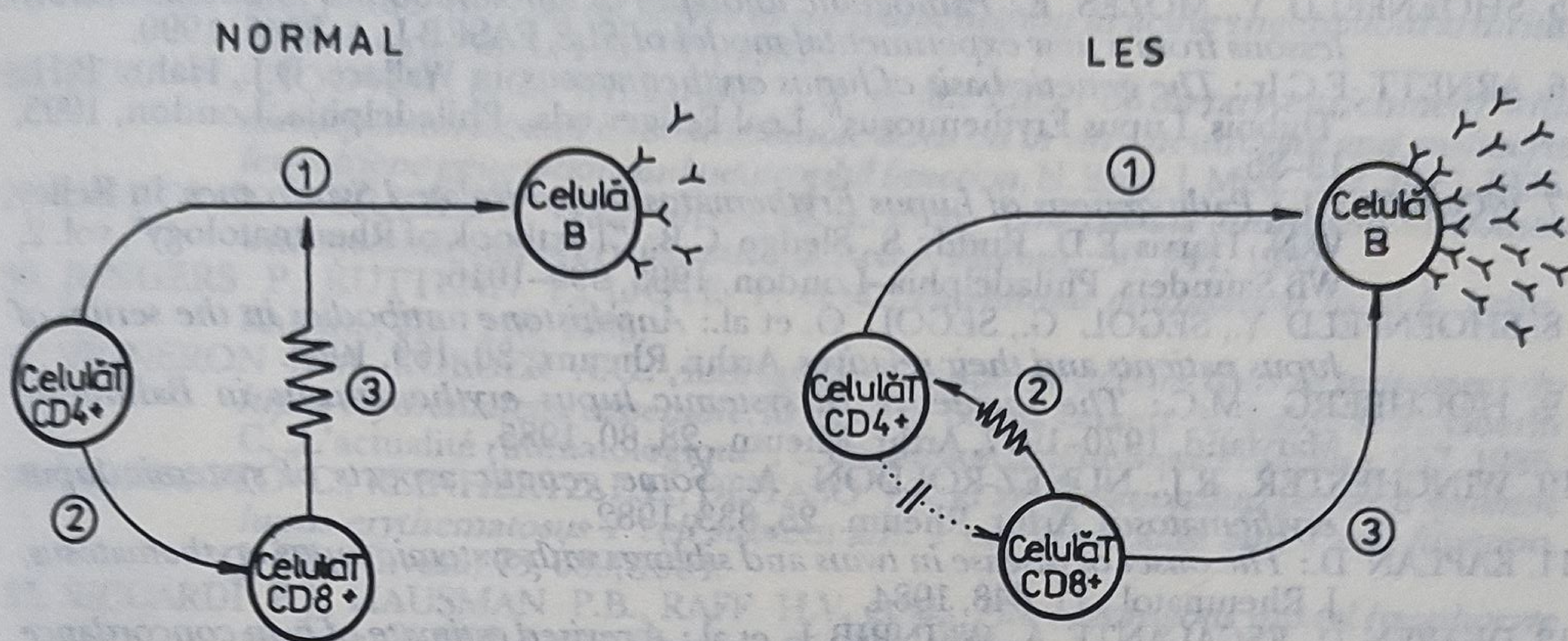


Fig. 3. Reglarea producerii anticorpilor la persoane normale și cu lupus eritematos sistemic (LES). La subiecți normali limfocitele CDH+ stimulate de antigeni induc formarea de anticorpi și de asemenea „ajută" limfocitele CD8+ să inhibe răspunsul imun umoral. În LES limfocitele T CDH+ nu sunt capabile să stimuleze celulele CD8+. În absența acestei stimulări, cele din urmă devin inductoare pentru celulele B și în mod paradoxal inhibă funcțiile limfocitelor CD4+. Acest mecanism menține o stimulare puternică a sintezei (auto) anticorpilor (după Mc Carty și Koopman, 1993).

complexelor imun circulante și a autoanticorpilor. Cercetările în ceea ce privește autoimunitatea sunt foarte dinamice. Acum, în ciuda miilor de cercetători implicați, a avalanșei de lucrări științifice și chiar a „marilor revelații", tratamentul pacienților cu boli autoimune nu s-a schimbat semnificativ în ultima decadă. Astăzi când mecanismele autoimunității au fost în general descifrate este timpul ca aceste cunoștințe să fie aplicate și acest lucru se va reflecta în prevenire și terapie.

BIBLIOGRAFIE

1. HARLEY J.B., SESTAK A.L., WILLIS L.G.: *A model for disease heterogenety in systemic lupus erythematosus,* Arthr. Rheum., 32, 826, 1989.
2. THEOFILOPOULOS A.N., DIXON F.J.: *Murine models of systemic lupus erythematosus,* Adv. Immunol., 37, 269, 1985.
3. JACOB L., TRON F.: *Induction of anti-DNA autoanti-idiotypic antibodies in (NZB/NZW) F1 mice: Possible role for specific immune suppression,* Clin. Exp. Immunol., 58, 293, 1983.
4. GAVALCHIN J., DATTA S.K.: *The NZB×SWR model of lupus nephritis. Autoantibodies deposited in renal lesions show a distinctive and restrictive idiotypic diversity,* J. Immunol, 138, 1987.

5. SHOENFELD Y., MOZES E.: *Pathogenic idiotypes of autoantibodies in autoimmunity: lessons from a new experimental model of SLE,* FASEB J., 4, 2646, 1990.
6. ARNETT F.C.Jr.: *The genetic basis of lupus erythematosus,* in Wallace D.J., Hahn B.H.: "Dubois' Lupus Erythemtosus", Leal Feliger eds., Philadelphia, London, 1993, 13–36.
7. WOODS V.L.: *Pathogenesis of Lupus Erythematosus and Related Syndromes,* in Kelley W.N., Harris E.D., Ruddy S., Sledge C.B., "Textbook of Rheumatology", vol. 2, WB Saunders, Philadelphia–London, 1993, 999–1016.
8. SHOENFELD Y., SEGOL G., SEGOL O. et al.: *Anti-histone antibodies in the serum of lupus patients and their relatives,* Arthr. Rheum., 30, 169, 1987.
9. HOCHBERG M.C.: *The incidence of systemic lupus erythematosus in Baltimore,* Maryland, 1970–1977, Arthr. Rheum., 28, 80, 1985.
10. WINCHESTER R.J., NUNEZ-ROLDON A.: *Some genetic aspects of systemic lupus erythematosus,* Arthr. Rheum., 25, 833, 1982.
11. KAPLAN D.: *The onset of disease in twins and siblings with systemic lupus erythematosus,* J. Rheumatol., 11, 648, 1984.
12. DEAPEN D., ESCALANTE A., WEINRIB L. et al.: *A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus,* Arthr. Rheum., 35 (3), 311, 1992.
13. BALLON S.P., KAHN M., KUSHER A.: *Clinical features of systemic lupus erythematosus. Differences related to race and age of onset,* Arthr. Rheum., 25, 55, 1982.
14. KALLENBERG C.G.M., KLAASEN R.J.L., BELLEN J.M. et al.: *HLA B_8/DR_3 phenotype and the primary immune responses,* Clin. Immunol. Immunopathol., 34, 135, 1985.
15. REVEILLE J.D.: *Molecular genetics of systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome,* Curr. Opin. Rheumatol., 2, 733, 1990.
16. FRONEK Z., LENTZ D., BERLINER D. et al.: *Systemic lupus erythematosus is not genetically linked to the beta-chain of the T cell receptor,* Arthr. Rheum., 32, 1465, 1989.
17. FRANK M.B., McARTHUR R., and HARLEY J.B.: *Anti-Ro (SSA) autoantibodies with T cell receptor beta-genes in systemic lupus erythematosus,* J. Clin. Invest., 85, 33, 1990.
18. ADELMAN N.E., WATLING D.L., McDEVITT H.O.: *Treatment of NZB/NZW/F_1 disease with anti-Ia monoclonal antibodies,* J. Exp. Med., 158, 1350, 1983.
19. SANY J.: *Immunomodulation therapeutique – anticorps anti-HLA de classe II monoclonaux et polyclonaux,* in Sany, J. Clot. J., „Immunorhumatologie", Flammarion, Paris, 1989.
20. MONGEY A. B., HESS, E.: *The potențial role of environmetal agents in SLE and asocieted disorders,* in Wallace D.J., Hahn B.H., "Dubois' Lupus Erythematosus", Lea & Febiger eds., Philadelphia–London, 37, 1993.
21. PELTIER A.P.: *Les facteurs d'environnement dans le lupus érythémateux disséminé,* in de Seze S., Ryckevaert A., Kahn M.F., Glimet T. „L'actualité rhumatologique", L'Expansion Scientifique Française, Paris, 32, 1977.
22. ALCOCER-VARELA J., IGLESIAS A., LLORENTE L. et al.: *Effects of L-canavanine on T cells may explain the induction of SLE by alfa-alfa,* Arthr. Rheum., 28, 52, 1985.
23. DIAZ A., POPE R., FISCHNACH M. et al.: *Enhancement of circulating autoantibodies and immune complex levels in autoimmune prone mice by high dietary fat intake,* Arthr. Rheum., 26, 520, 1983.
24. KELLY V.E., FERRETTI A., IZUI S. et al.: *A fish oil diet rich in eicosapentanoic acid reduces cycloxygenase metabolites and suppresses lupus in MRL-lpr mice,* J. Immunol., 134, 1914, 1985.
25. SKOLDSTAM L., LINDSTROM F.D.: *Impaired conA suppressor cell activity in patients with rheumatoid arthritis shows normalisation during fasting,* Scand. J. Rheumatol., 12, 369, 1983.
26. CLELAND L.G., FRANCH J.K., BETTS W.H. et al.: *Clinical and biochemical effects of dietary fish oil supplements in rheumatoid arthritis,* J. Rheumatol., 15, 1941, 1988.

27. KREMER J.M., JULIS W.: *Fish oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis,* Ann. Intern. Med., 106, 497, 1987.
28. LEET H., HOOVER R.C., WILLIAMS J.D. et al.: *Effect of dietary enrichment with eicosapentanoic and docosahexanoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leucotriene generation and neutrophil function,* N. Engl. J. Med., 312, 1917, 1985.
29. LAHITA R.G., BRADLOW H.L., GINZLER E. et al.: *Low plasma androgens in women with systemic lupus erythematosus,* Arthr. Rheum., 30, 241, 1987.
30. JUNGERS P., KUTTENN F., LIOTE F. et al.: *Hormonal modulation in SLE,* Arthr. Rheum., 28, 1243, 1985.
31. VIGNERON A.M., KOEGER A.C.: *Androgènes et antioestrogènes dans le traitement du lupus érythémateux dissémine,* in de Sèze S., Ryckevaert A., Kahn M.F., Guerin C. „L'actualité rhumatologique", L'Expansion Scientifique Française, 257, 1985.
32. MORIMOTO C., REINHERTZ E.L., DISTASO J.A. et al.: *Relationship between systemic lupus erythematosus T cell subsets, anti T cell antibodies and T cell function,* J. Clin. Invest., 73, 689, 1984.
33. RICCARDI P.J., HAUSMAN P.B., RAFF H.V. et al.: *The autologous mixed lymphocyte reaction in SLE,* Arthr. Rheum., 25, 820, 1982.
34. STEINBERG A.D., RAVECHE E., KLINMAN D.M.: *Pathogenesis of SLE,* in Klippel J.H., "Systemic lupus erythematosus", Rheumatic disease clinics of North America, vol. 14, WB Saunders co, Philadelphia, 1988.
35. HAHN B.H.: *An overview of the pathogenesis of SLE,* in Wallace D.J., Hahn B.H., "Dubois' Lupus Erythematosus", Lea & Febiger, Philadelphia, London, 67, 1993.
36. FAUCI A.S., *MOUTSOPOULOS H.M.: Polyclonally triggered B-cells in the peripheral blood and bone marrow of normal individuals and patients with SLE and primary Sjögren's syndrome,* Arthr. Rheum., 24, 577, 1986.
37. BOUPAS D.T., TSOKOS G.C., MANN D.L. et al.: *Increased protooncogenes expression in blood lymphocytes from patients with SLE,* Arthr. Rheum., 29, 755, 1986.
38. HANDWERGER B.S.: *Lymphocyte biology in lupus,* Curr. Opin. Rheumatol., 2, 749, 1990.
39. TANAKA T., SAIKI O., NEGORO S. et al.: *Decreased expression of interleukin-2 binding molecules in T cells from patients with SLE,* Arthr. Rheum., 32, 398, 1989.
40. WINFIELD J.B., MIMURA T.: *Pathogenetic significance of antilymphocyte autoantibodies in systemic lupus erythematosus,* Clin. Immunol. Immunopathol., 63 (1), 13, 1992.
41. INGHIRAMI G., SIMON J., BALOW J.E., TSOKOS G.C.: *Activated LT in the peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus induce LB to produce immunglobulin,* Clin. Exp. Rheumatol., 6, 269, 1988.
42. CAMPEN D.H., HORWITZ D.A. et al.: *Serum levels of IL-2 receptor and activity of rheumatic diseases characterised by immune system activation,* Arthr. Rheum., 31, 1358, 1988.
43. HOFFMAN T.: *Natural killer function in systemic lupus erythematosus,* Arthr. Rheum 23, 30, 1980.
44. KATZ P. et al.: *Abnormal natural killer function in systemic lupus ertyhematosus: an intrinsec defect in the cytolitic event,* J. Immunol., 129, 1966, 1982.
45. SIBBITT W.L. et al.: *Relationship between circulating interferon and anti-interferon antibodies and impaired natural killer cell activity in systemic lupus erythematosus,* Arthr. Rheum., 28, 624, 1985.
46. BOSWELL J., SCHURR P.H.: *Monocyte function in systemic lupus erythematosus,* Clin. Immun. Immunopathol., 52, 271, 1989.
47. WOFSY D., SEAMAN W.E.: *Successfull treatment of auto-immunity in NZB/NZW/F$_1$ mice with monoclonal antibody to L-3-T$_4$,* J. Exp. Med., 161, 378, 1985.
48. THEOFILOPOULOS A.N., KOFLER R., SINGER P.A., DIXON F.J.: *Molecular genetics of murine lupus models,* Advances in Immunology, 46, 61, 1989.
49. COHEN I.R., WEINER H.L.: *T-cell vaccination,* Immunol. Today, 11, 332, 1988.
50. ISENBERG D.A., SCHOENFELD Y., MADAIO M.P. et al.: *Anti-DNA antibody idiotypes in systemic lupus erythematosus,* Lancet, 11, 417, 1984.

Sindromul Dressler și sindromul postpericardiotomie reprezintă două suferințe pericardice cărora li se postulează în geneză un mecanism imunologic similar. Acest postulat pornește de la identificarea unor caracteristici comune, care par să indice probabilitatea implicării în geneză a unei reacții imune. Aceste caracteristici sunt (Braunwald):

- existența unei leziuni inițiale a celulei endoteliale;
- pătrunderea inițială de sânge în sacul pericardic;
- reacție inflamatorie întârziată după această leziune;
- apariția de anticorpi antimiocardici;
- răspuns foarte rapid favorabil la tratament antiinflamator;
- tendința la recidivă.

Tabloul clinic foarte similar, aceste trăsături comune și probabilitatea unui mecanism patogenetic identic ne permite propunerea de grupare a celor două entități sub o denumire unică: sindromul imun posttraumatic cardiopericardic.

Sindromul Dressler se întâlnește la un număr mic din bolnavii convalescenți după un infarct miocardic. Boala apare între o săptămână și câteva luni de la instalarea necrozei miocardice (în general 2–3 săptămâni) și se manifestă prin febră, pericardită și pleurită. Inițial, Dressler (1956–59) a apreciat incidența sindromului descris de el la circa 4% din totalul bolnavilor cu infarct miocardic, dar studii recente indică o frecvență mult mai mică.

Bolnavul convalescent remarcă apariția unei alterări a stării generale cu febră și dureri toracice care nu cedează la nitroglicerină. Intensitatea durerii poate ridica suspiciunea unei noi necroze miocardice sau a unei angine reziduale. Examenul fizic evidențiază semne de pericardită și pleurezie, respectiv prezența unei frecături pericardice și/sau pleurale.

Din punct de vedere clinic sugerează mecanismul imun posibil; chiar dacă e rară, se observă o asociere a poliserozitei cu artralgii sau chiar artrite tranzitorii și evoluție recidivantă.

Radiologic se remarcă o mărire a imaginii cardiace, secundară prezenței d lichid pericardic, prezența de lichid în cavitatea pleurală și, eventual, de infiltrate pulmonare tranzitorii.

Electrocardiografic nu apar semne de extindere a necrozei (semn important de diferențiere), dar pot să apară semne de suferință acută pericardică (ischemie-leziune subepicardică).

Examenul ecografic poate confirma prezența revărsatului lichidian pericardic, iar examenele de laborator arată semne de inflamație (ex: creșterea VSH, leucocitoza) și absența semnelor de necroză miocardică.

Apariția de anticorpi antimiocardici a fost descrisă la circa 1/3 din cazuri, fără a fi însă specifică sau obligatorie. Strausz și colab. (1967), precum și Kuch și Chorzelski (1971) au demonstrat apariția de anticorpi anticord după episoade ischemice, chiar în afara unei reacții pericardice, ceea ce a ridicat unele obiecții față de rolul lor patogenetic.

Diagnosticul diferențial al sindromului Dressler trebuie făcut, în primul rând, cu pericardita de însoțire a infarctului miocardic. Aceasta apare ca o complicație, relativ frecventă (20–30%), precoce (de regulă, în prima săptămână) de evoluție a unui infarct miocardic acut, are o existență tranzitorie și nu cuprinde afectare concomitentă pleurală, articulară sau manifestări generale.

Un alt diagnostic diferențial este cel al unui nou accident coronarian distins prin caracterul durerii toracice, modificările electrocardiografice și oscilația enzimatică specifică.

Dacă etiologia sindromului Dressler este necunoscută, mecanismul imun este cel mai frecvent acceptat. Declanșarea acestui mecanism a fost atribuită unor factori diferiți dintre care pot fi menționați: activarea unei infecții virale latente – concomitent cu leziunea miocardică – prezența de sânge în cavitatea pericardică sau numai eliberarea de proteine din zona de necroză.

Ipoteza rolului prezenței de sânge în cavitatea pericardică a fost utilizată pentru a explica scăderea aparentă a incidenței acestei complicații în studiile mai recente față de studiul inițial al lui Dressler. S-a prezumat ca această scădere coincide cu scăderea utilizării tratamentului cu anticoagulante orale în infarctul acut, ceea ce ar fi dus la scăderea revărsatelor hemoragice pericardice postinfarct și implicit, scăderea ulterioară a sindromului Dressler. Ca un argument în plus în favoarea ipotezei mecanismului imun apare răspunsul terapeutic. Un prim episod răspunde la tratament antiinflamator nesteroid, dar episoade repetate impun tratamentul cortizonic.

Din punct de vedere al evoluției la distanță, sindromul Dressler poate fi urmat de dezvoltarea unei pericardite constrictive care impune pericardiotomia. Cheung și colab., publică o asemenea observație privind dezvoltarea unei constricții pericardice la scurt timp după un sindrom Dressler. Bolnavul respectiv nu a recunoscut în evoluție un episod de hemoragie pericardică sau de tratament anticoagulant care să justifice constricția prin hemopericard. Autorii remarcă însă în evoluția sindromului Dressler apariția unei anemii interpretată ca expresie a unei reacții imune mai severe.

Sindromul postpericardiotomie are un tablou clinic identic constând în apariția în a doua sau a treia săptămână după o intervenție pe cord a unei stări

Sindroamele posttraumatice cardiopericardice (sindromul Dressler și cel post-pericardiotomie) justifică prin comunitatea tabloului clinic și biologic gruparea într-o entitate comună. Argumentele clinice și de investigație arată convingător mecanismul imun ca fiind cel mai probabil implicat în patogenie, chiar dacă desfășurarea exactă a fenomenului nu este clar definită.

Rezumând posibilitățile, apariția corelată semnificativ cu tabloul clinic a anticorpilor antimiocard și antiendoteliu pare să indice un rol patogenic al acestora și o reacție imună specifică. Dar posibilitatea existenței acelorași modificări în absența oricăror manifestări clinice lasă deschisă posibilitatea unei reacții nespecifice. Rolul declanșator a unei infecții virale latente preexistente sau concomitente este posibil, dar nedovedit. Reprezintă sarcina cercetării viitoare elucidarea etapelor exacte ale acestui mecanism.

BIBLIOGRAFIE

1. CHEUNG P.K., MYERS M.L., ARNOLD J.M.: *Early constrictive pericarditis and anemia after Dressler's syndrome and inferior wall myocardial infarction*. Brit. Heart J. 1991; 65: 360–2.
2. CIMINO J.J., KOGAN A.D.: *Constrictive pericarditis after cardiac surgery: report of three cases and review of the literature*. Amer. Heart J., 1989; 118: 1292–301.
3. ENGLE M.A., ITO T.: *The postpericardiotomy syndrome*. Am. J. Cardiology, 1961, 7: 73–82.
4. ENGLE M.A., McCABE J.C., EBERT P.A., ZABRISKIE J.B.: *The postpericardiotomy syndrome and antiheart antibodies*. Circulation, 1974, 49: 401–6.
5. ENGLE M.A., GAY W.A., ZABRISKIE J.B., SENTERFIT L.B.: *The postpericardiotomy syndrome: 25 years' experience*. J. Cardiovasc. Med.: 1984, 4: 321.
6. KASSANOFF A.H., MARTIROSSIAN M.G.: *Postpericardiotomy and postmyocardial infarction syndrome presenting as noncardiac pulmonary edema*. Chest: 99, 6: 1410–14.
7. KIM Y.K., MOHSENIFAR Z., KOERNER S.K.: *Lymphocytic pleural effusion in postpericardiotomy syndrome*. Amer. Heart J.; 1988, 115: 1077–79.
8. KUCH J., CHORZELSKI T.: *Immunofluorescence studies in recent myocardial infarction*. Cardiovasc. Res. 1971, 5: 353–7.
9. LAU C.P., FONG P.C., TAI Y.T., Li J.P., CHUI C.C.: *Postpericardiotomy syndrome complicating transvenous dual-chamber rate-adaptative pacing: Diagnosis aided by transesophageal echocardiography*. Amer. Heart J. 1992, 123: 1388–90.
10. LORELL B.H., BRAUNWALD E.: *Pericardial Disease* in Braunwald: Heart Disease. Saunders, 1992.
11. MAISCH B., BERG P.A., KOCHSIEK K.: *Clinical significance of imunopathological findings in patients with postpericardiotomy syndrome. 1. Relevance of antibody pattern*. Clin. Exp. Immunol., 1979, 38: 189–97.
12. STRAUSZ I., DOBIAS G.Y.: *Antibodies reacting with heart muscle tissue in coronary heart disease*. J. Clin. Pathol., 1967, 20: 161–5.
13. VAN Der Geld H.: *Anti-heart antibodies in the postpericardiotomy and the postmyocardial infarction syndrome*. Lancet., 1964, 2: 617–21.
14. WEBBER S.A., WILSON N.J., FUNG M.Y., MALLESON P.N., PETTY R.E., PATTERSON M.W., SANDOR G.G.: *Autoantibody production after cardio-pulmonary bypass with special reference to postpericardiotomy syndrome*. J. Pediatrics, 1992, 121: 744–7.

CITOPENII IMUNE

Şef lucrări dr. ADRIANA COLIŢĂ

Prof. dr. DAN COLIŢĂ
Clinica de Hematologie
Spitalul Clinic Fundeni,
Universitatea de Medicină şi Farmacie
Bucureşti

Medic primar, dr. ILEANA DIMA
Şeful Laboratorului Imunoserologie
al Clinicii de Hematologie
Spitalul Clinic Fundeni
Bucureşti

Medic primar, dr. IOANA RĂILEANU-MOŢOIU
Cercetător ştiinţific principal I
Şeful Laboratorului Imunologie Celulară
al Clinicii de Hematologie
Spitalul Clinic Fundeni
Bucureşti

sunt complexe solubile adsorbite pe celule-țintă („spectatorii inocenți" ai procesului) sau complexe formate direct pe suprafața celulelor-țintă, declanșează procesele imune de înlăturare a lor din organism, procese care implică în mod inerent și celulele purtătoare.

ANEMII HEMOLITICE PRIN ALLOANTICORPI

Sunt întâlnite în situații clinice: hemoliza posttransfuzională și boala hemolitică a noului-născut (BHNN).

Hemoliza posttransfuzională este observată în două circumstanțe: accidentul transfuzional provocat de anticorpi „naturali" (regulari sau iregulari) și accidentul transfuzional provocat de anticorpi „imuni", induși după o alloimunizare prealabilă a receptorului față de alloantigen. Din punct de vedere clinic sunt recunoscute 2 tipuri de reacție posttransfuzională: imediată și tardivă.

Anticorpii naturali există în plasma normală fără o preimunizare aparentă. Anticorpii regulari sunt prezenți în mod practic la toți indivizii care posedă un fenotip eritrocitar corespunzător. Exemplul clasic este cel al anticorpilor α și β specifici pentru sistemul ABO. Anticorpii iregulari apar numai la unele dintre persoanele care exprimă fenotipul corespunzător (de ex. anticorpii asociați cu sistemul Lewis).

Prezența anticorpilor naturali respectă regula biologică „horror autotoxicus": nu există în plasmă decât dacă antigenul corespunzător *nu* este exprimat pe eritrocitele persoanei respective [exemple: anticorpii anti-A există în plasma persoanelor de grup B sau O; anticorpii anti-Lewis^{a} pot exista numai la persoane cu fenotip Le (a-b-)] (2, 36). Mecanismul care induce formarea anticorpilor naturali nu este integral descifrat, însă se cunosc o serie de substanțe antigenice (din alimente și din bacterii) care conțin determinanți comuni cu cei eritrocitari A și B. Acestea imunizează în mod „natural" organismele susceptibile care ajung să formeze anticorpi ce vor reacționa încrucișat și cu antigenele A și B.

Circa 90% din accidentele transfuzionale acute provocate de anticorpi naturali, sunt consecința administrării unor eritrocite ABO–incompatibile în raport de anticorpii regulari α și/sau β ai receptorului. Aceștia sunt IgM care se comportă ca aglutinine activatoare de complement prin calea clasică. Activarea complementului până la secvențele finale reprezintă elementul

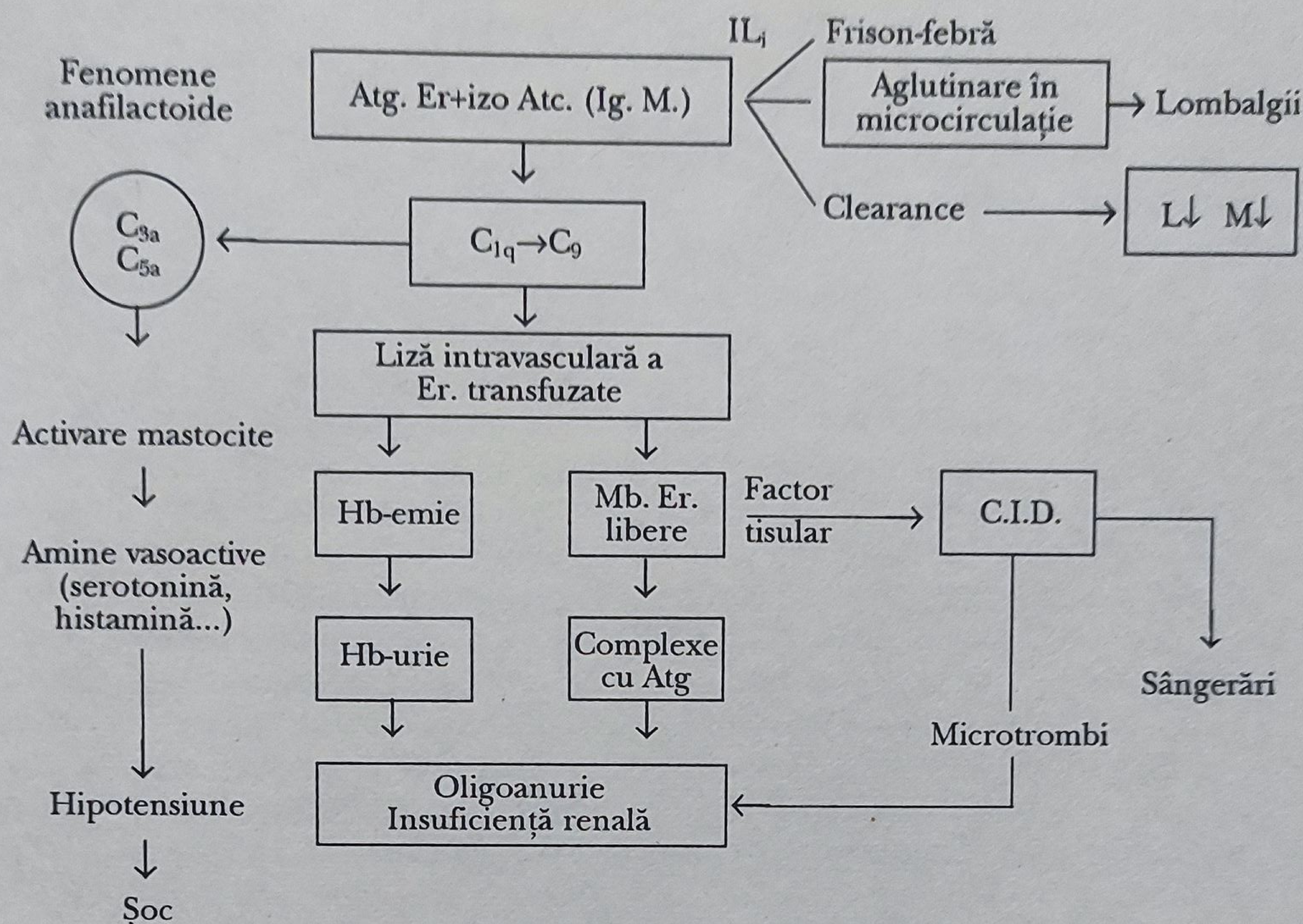


Fig. 2. Succesiunea tulburărilor în accidentul transfuzional acut (după 12.)

fiziopatologic central prin conexiunile sale cu sistemul imun, cu coagularea plasmei și cu reacția inflamatorie (49): produce direct anafilatoxine și hemoliză intravasculară intensă a eritrocitelor transfuzate, și mediază eliberare de amine vasoactive și activarea coagulării plasmei care, toate, generează complicațiile grave ale conflictului: stare de șoc, insuficiență renală și sindromul de coagulare intravasculară diseminată (fig. 2).

Manifestările clinice sunt imediate: anxietate extremă, dureri difuze la nivelul lombelor și flancurilor (provocate de aglutinate eritrocitare din microcirculație), congestia fluxionară a feței și erupții urticariforme, tahipnee, tahicardie, grețuri, vărsături, hipotensiune (urmată uneori de stare de șoc). După 30–60 minute apare frison solemn și febră (mediată de IL_1 și de alți pirogeni). Primele urini eliminate pot fi hemoglobinurice, dar oliguria poate surveni, mai ales în conjuncție cu hipotensiunea, anunțând instalarea insuficienței renale. Apariția purpurei, a altor manifestări hemoragice și/sau a microtrombozelor periferice relevă instalarea sindromului de coagulare intravasculară diseminată, care este probabil declanșat în urma eliberării masive de tromboplastină din resturile stromale ale eritrocitelor lizate intravascular. Aceste resturi membranare sunt puternic antigenice și formează complexe imune cu izoa-

În ordinea frecvenței se întâlnesc anticorpi cu specificitate față de antigene din sistemele: Rhesus (E, c, C, e) Kidd (JK^a), Kell, Duffy, M, N, Ss.

Hemoliza posttransfuzională întârziată allo-imună (tip I) apare la bolnavi prealabil imunizați, dar ai căror anticorpi serici erau în prea slabă concentrație pentru ca ei să poată fi decelați prin examenele pretransfuzionale.

Evoluția concentrației allo-anticorpilor de-a lungul timpului a fost studiată prospectiv de Ramsey și Larson. Aceștia au arătat că aproximativ 30% din allo-anticorpi nu mai sunt decelabili după 1–60 luni de la apariția lor. Anticorpii anti-JK^a sunt detectabili în ser pe o perioadă foarte scurtă (60% nu mai sunt decelați), datorită degradării rapide in vivo. De aceea anticorpii anti-Kidd sunt tipic în cauză în acest tip de accidente transfuzionale. De aceea la politransfuzați, administrarea sângelui fenotipat în sistemele imunogene Rhesus, Kell, Duffy și Kidd diminuează mult riscul allo-imunizării (36).

Hemoliza posttransfuzională întârziată autoimună (tip II) este o complicație posttransfuzională mult mai rară decât hemoliza întârziată allo-imună, care pare să fie factorul declanșant.

Prevenirea acestor accidente transfuzionale depinde de sensibilitatea tehnicilor serologice utilizate pentru decelarea anticorpilor serici, dar și de colaborarea între laboratorul de transfuzii și clinician.

BOALA HEMOLITICĂ A NOULUI-NĂSCUT (BHNN)

BHNN este răsunetul clinic al incompatibilității feto-materne (situația în care eritrocitele fetale exprimă antigene moștenite de la tată, care lipsesc din repertoriul antigenic al mamei). Prin imunizarea mamei împotriva acestor antigene străine ea va produce anticorpi izoimuni, care, fiind de clasă IgG, pot străbate placenta producând hemoliză la făt.

Imunizarea mamei este provocată de trecerea eritrocitelor fetale prin placentă. Acest model particular de „transfuzie" este un fenomen obișnuit în sarcină. El devine semnificativ în ultimul trimestru al acesteia și se amplifică brusc în timpul travaliului (mai ales dacă se recurge la manevre obstetricale). Circa 50% din parturiente prezintă eritrocite fetale în circulația lor ce pot fi depistate prin diverse metode (de ex. cu testul Kleihauer care evidențiază eritrocitele fetale mari ce conțin hemoglobină F – după rezistența lor în mediu acid (19).

În majoritatea cazurilor această intruzie de eritrocite fetale nu depășește un ml., dar într-o sarcină incompatibilă chiar și cantități mai mici pot provoca imunizarea mamei. Teoretic orice antigen eritrocitar poate induce imunizarea mamei, dar în practică antigenele cel mai frecvent implicate aparțin

sistemelor ABO (2/3 din cazuri) și Rh. Imunizarea anti-A și anti-B apare aproape exclusiv la mame de grup O. Imunizarea anti-Rh apare la mame Rh-negative.

Imunizarea anti-Rh este cea mai severă, în special cand este indusă de antigenul D care este puternic imunogen. Sensibilizarea mamei (răspunsul primar) se produce după prima sarcină Rh-pozitivă.

Primul născut nu va face boală hemolitică. Ulterior, după fiecare nouă sarcină Rh-pozitivă, mama se imunizează tot mai intens și următorii copii Rh+ fac boală hemolitică din ce în ce mai gravă. Intensitatea hemolizei dictează aspectele clinice. Formele grave conduc la anasarcă (hydrops foetalis) și moarte in utero. Ocazional, fetii hidropici se pot naște vii, prezentând anemie extremă, eritroblastemie, hepato-splenomegalie și retenție hidrică (edeme pulmonare și periferice, revărsate pleurale și peritoneale). Mecanismul retenției hidrice pare complex: insuficiență cardiacă, hipoalbuminemie, hipertensiune portală, edem placentar (11). În majoritatea cazurilor, acești copii nu pot fi menținuți în viață. Formele ușoare sunt mult mai numeroase ca precedentele. Noii născuți pot fi aparent normali, sau anemici, și fără edeme. Hepatosplenomegalia și eritroblastoza sanguină sunt cvasi constante. Ele exprimă efortul de compensare eritroidă al organismului copilului, ca reacție la hemoliză. Icterul se instalează în următoarele 24 de ore. Intensitatea lui reflectă intensitatea hemolizei. Absența icterului la naștere se explică prin difuziunea transplacentară a bilirubinei indirecte (productul catabolismului protoporfirinei eliberate în urma hemolizei) care este conjugată în ficatul gravidei. După naștere însă, bilirubina indirectă nu poate fi prelucrată eficient de ficatul copilului din cauza deficienței fiziologice a glicuronoconjugării și astfel se acumulează în circulația copilului. În aproximativ 30% din aceste cazuri se constituie o encefalopatie provocată de impregnarea cu bilirubină a nucleilor cerebrali („icterul nuclear").

Icterul nuclear se manifestă prin țipăt continuu, convulsii, opistotonus și tulburări respiratorii. Puținii copii care supraviețuiesc (≤10%) rămân cu sechele neurologice permanente.

Diagnosticul se bazează pe testul Coombs direct care evidențiază anticorpii pe eritrocitele copilului. Tratamentul de elecție constă din exsanguinotransfuzie (cu sânge Rh-negativ), asociată cu administrări i.v. de albumină umană (pentru atragerea bilirubinei din țesuturi) și cu fototerapie (expunerea la lumină albastră – transformă bilirubina neconjugată toxică în izomeri hidrosolubili nontoxici). Prevenirea morții fetale precoce in utero implică plasmafereza cu schimb de plasmă, care se aplică gravidei și diverse metode de transfuzie a fătului in utero cu eritrocite Rh-negative. Provocarea nașterii premature (prin operație cezariană) este recomandată în săptămânile 32–35 pentru a sustrage fătul de riscurile mortalității ridicate ale ultimelor săptămâni de sarcină. Profilaxia alloimunizării anti-D este realizabilă în 95%

din cazuri, prin administrarea de Ig anti-D la mama Rh-negativă aflată în situația de risc de alloimunizare.

În cazul imunizării prin sarcină anti-A sau anti-B accidentele hemolitice sunt mult mai rare și mai puțin severe deoarece foetusul este protejat de mai mulți factori: exprimarea antigenelor A și B pe eritrocitele fetale este slabă; substanțele A și B sunt exprimate nu numai pe eritrocite ci și pe alte țesuturi fetale sau pe celulele endoteliului placentar și, uneori, pot fi prezente și în umori. Această masă imensă de antigene neutralizează anticorpii materni protejând eritrocitele copilului. Trebuie precizat însă că femeile pot fi imunizate dinaintea sarcinii incompatibile prin stimulări întâmplătoare cu substanțe exogene (alimentare sau bacteriene), care prezintă determinanți identici cu substanțele A și B (vezi mai sus pag. 4). Așa se explică posibilitatea, rară, ca anemia hemolitică a noului născut să apară chiar de la prima sarcină incompatibilă. Dovada alloimunizării mamei o aduce evidențierea anticorpilor *imuni* (IgG) anti-A sau anti-B. Deoarece anemia severă a noului născut este rară, în aceste condiții de allo-imunizare, singura indicație a exsanguinotransfuziei este o mare hiperbilirubinemie, nestăpânită în prealabil prin fototerapie (48).

Este de semnalat că o eventuală nepotrivire feto-maternă în sistemul ABO, protejează în parte mama împotriva unei imunizări contra antigenului fetal Rh (D), probabil prin distrugerea rapidă a eritrocitelor fetale ABO de către anticorpii naturali din sângele matern.

ANEMIILE HEMOLITICE AUTOIMUNE (AHAI)

AHAI sunt afecțiuni dobândite caracterizate prin scurtarea duratei de viață a eritrocitelor (Er.), datorită prezenței pe Er. și/sau în plasma bolnavului a autoanticorpilor (AAC) anti-eritrocitari asociați sau nu cu complement.

AHAI trebuie deosebite de anemiile hemolitice imunologice realizate prin allo-imunizare feto-maternă sau posttransfuzional și anemiile hemolitice imuno-alergice unde anticorpul produs este specific medicamentului (penicilină, rifampicină). Singurele medicamente responsabile de prezența anticorpilor anti-eritrocitari IgG care recunosc eritrocitele normale în absența medicamentului sunt: α-metil-dopa, L-dopa și acidul mefenamic (5, 36). Ele sunt responsabile de anemia hemolitică autoimună de origine medicamentoasă.

AHAI prezintă caracteristicile:

• Autoanticorpii antieritrocitari au *specificitate pentru antigenele membranei eritrocitare* prezente la indivizii normali și comune tuturor indivizilor din aceeași specie (antigene de mare frecvență, publice, izotipice sau monomorfice) (5, 9, 25, 26, 36).

• AHAI este prima boală autoimună descrisă la om, în care s-a demonstrat *rolul patogen al autoanticorpilor anti-eritrocitari* în scurtarea duratei de viață a eritrocitelor.

• Aspectele clinice ale bolii depind de tipul imunologic. Caracteristicile imunologice IgG și IgM calde și reci au stat la baza uneia din clasificările AHAI care diferă prin etiopatogenie, prognostic și tratament.

• Pe parcursul evoluției bolii se pot constata la același bolnav multiplii AAC anti-Er. a căror natură și specificitate poate varia, în timp subliniind multiplicitatea clonelor care le dau naștere. De asemenea, AAC anti-Er. se pot găsi asociați cu alți anticorpi: allo-anticorpi, hetero-anticorpi, anticorpi antinucleari, anti-plachetari, factor reumatoid, ca o mărturie a perturbării imunitare centrale (25).

Incidența

În majoritatea statisticilor (25) AHAI are o frecvență anuală de $^1/38\,000$–$^1/80\,000$ locuitori. Ea poate fi întâlnită la toate vârstele, dar cu o frecvență mai mare înainte de 4 ani (unde predomină formele acute tranzitorii) și după 50 ani (unde predomină formele cronice). La copil, înainte de 16 ani, este observată o predominență masculină, iar la adult sunt afectate mai frecvent femeile. Unele studii subliniază existența unei predispoziții genetice în apariția AHAI.

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL AHAI

Cele două elemente principale ale diagnosticului AHAI sunt evidențierea hemolizei și a autoanticorpilor antieritrocitari:

• Markerii generali ai hemolizei sunt de 2 tipuri: a) indicatori biochimici ai catabolismului protoporfirinei eliberate din eritrocite (hiperbilirubinemia indirectă și hiperurobilinogenuria) și b) reacția citologică compensatorie secundară hipoxiei anemice (hiperreticulocitoza și hiperplazia eritroidă a măduvei osoase). În hemolizele intravasculare se mai adaugă elemente specifice care sunt rezultatul descărcării directe a hemoglobinei în plasmă: hemoglobinemie (care poate produce colorarea în roz a plasmei), blocarea masivă a heptoglobinei și eventual și a hemopexinei plasmatice (cu prăbușirea titrurilor respective), hemosiderinuria și hemoglobinuria.

- Demonstrarea naturii autoimune a unei anemii hemolitice are la bază demonstrarea prezenței autoanticorpilor antieritrocitari și se realizează printr-un ansamblu de teste imunohematologice care evidențiază autoanticorpii fixați in vivo pe antigenele eritrocitare și/sau anticorpii liberi în ser.

EVIDENȚIEREA ANTICORPILOR PE ERITROCITE

Testul Coombs direct (TCD)

Cunoașterea AHAI a devenit posibilă prin introducerea în 1954 de către Coombs a testului direct cu antiglobulină umană, care atestă în aproape totalitatea cazurilor, originea autoimună a AHAI. TCD demonstrează prin aglutinare directă prezența imunoglobulinelor și/sau a complementului la suprafața eritrocitelor bolnavului (debarasate prin spălare de proteinele plasmatice) (56). Reactivul antiglobulină umană polispecific este preparat prin imunizarea animalelor (iepuri, capre, cai) și conține anticorpi anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-C_3 și anti-C_4.

În fața unui test Coombs direct pozitiv cu reactiv polispecific, este necesară precizarea naturii proteinei responsabile de sensibilizarea eritrocitelor. Pentru aceasta se recurge la repetarea TCD folosind antiseruri mono-specifice: anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-C_3, anti-C_4.

Pozitivitatea TCD constituie un element major de diagnostic, dar el singur nu semnifică totdeauna existența autoanticorpilor anti-eritrocitari (56). TCD poate fi pozitiv și în prezența unui allo-anticorp, a unui anticorp anti-medicament sau după fixarea lui C_3 din complexele imune circulante la receptorii C_{3b} ai eritrocitelor și subliniază importanța rolului jucat de masa mare a eritrocitelor în clearance-ul complexelor imune plasmatice. Invers, negativitatea testului standard semnifică în mod obligatoriu absența autoanticorpilor (25). Pentru a obține o aglutinare vizibilă cu ochiul liber, densitatea imunoglobulinelor (Ig) trebuie să fie mai mare de 500 molecule pe eritrocit (5). Utilizând tehnici mai sensibile se poate demonstra sensibilizarea eritrocitelor cu 50–100 molecule Ig/Er. Deși concentrația AAC este scăzută ei sunt suficient de toxici pentru a provoca distrugerea prematură a Er. Într-un caz se citează TCD anti-lanțuri ușoare Kappa și lambda ca singurii reactivi ce au detectat AAC la suprafața Er. (25).

După efectuarea testului Coombs direct trei tipuri principale de pozitivitate sunt observate: „IgG” – când eritrocitele sunt învelite numai cu IgG (așa-numitul TCD tip gama), „IgG+C_3” – când eritrocitele sunt învelite cu IgG+C_3 în același timp, și TCD „non-gama” când eritrocitele sunt învelite numai cu C_3 (fig. 3) (5).

Er. Testate	Reactiv		TCD
	Anti-IgG	Anti-C_3	
	–	–	Negativ
	+	–	Pozitiv IgG
	–	+	Pozitiv C_3
	+	+	Pozitiv mixt IgG+C_3

Fig. 3. Trei tipuri principale de AHAI definite prin testul Coombs direct (IgG și/sau complement) după natura globulinelor prezente la suprafața eritrocitelor (după J.F. Bach).

Există o oarecare corelație între cantitatea Ig fixată pe Er. și severitatea hemolizei. Subclasele de IgG în cauză (pot fi recunoscute utilizând antiseruri specifice. Această precizare este foarte importantă deoarece AAC responsabili de hemoliză, sunt IgG1 și IgG3, mai rar IgG2 și niciodată IgG4.

Autoanticorpii IgA izolați sunt foarte rar întâlniți (25, 47).

Autoanticorpii IgM există frecvent, dar detectarea lor la suprafața Er. prin TCD este foarte dificilă deoarece ei se detașează ușor de pe Er. în timpul spălărilor prealabile.

Evidențierea AAC în ser

Serul poate conține anticorpi eluați sau neabsorbiți în totalitate pe eritrocite care sunt decelabili prin alte metode sau uneori și prin TCD. După comportarea lor in vivo, acești anticorpi sunt denumiți:

– *aglutinine la rece,* care provoacă aglutinarea Er. în mediu salin și un TCD^+ de tip complement;

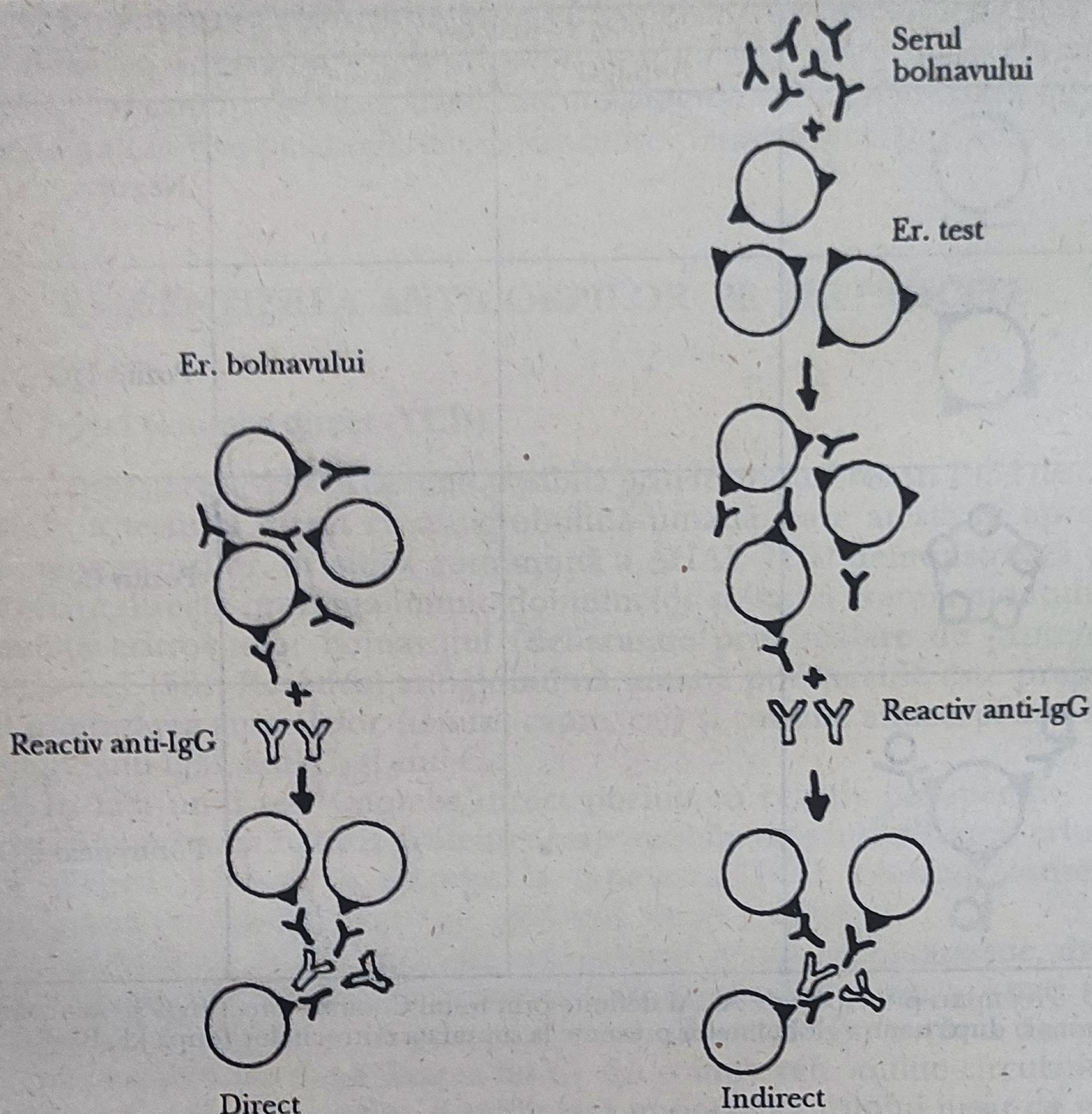


Fig. 4. Test Coombs. Testul. Coombs direct evidențiază AAC anti-Er. fixați in vivo pe Er. bolnavului. Testul Coombs indirect evidențiază AAC anti-Er. incompleți liberi în serul bolnavului (după J.F. Bach).

– *hemolizine bifazice* (Donath-Landsteiner) care se evidențiază cu un test specific și care dau un TCD^+ de tip complement;

– *hemolizine calde* care provoacă reacție de hemoliză și un TCD^+ de tip complement;

– *anticorpi incompleți* care se evidențiază prin testul Coombs indirect sau utilizând eritrocite tratate cu proteaze (fig. 4).

În toate cazurile sunt obligatorii:

a) verificarea prin confruntare cu eluatul și fenotipul eritrocitar al bolnavului, dacă există mai mulți anticorpi de specificități diferite sau un alloanticorp asociat de importanță transfuzională;

b) urmărirea evoluției tabloului hematologic și serologic pentru că diminuarea până la dispariția AAC serici este prima etapă a procesului de remisiune sau de vindecare a AHAI.

NATURA ȘI SPECIFICITATEA AUTOANTICORPILOR

Investigarea Er. și serului de bolnav a permis gruparea AAC și AHAI în patru categorii principale întâlnite în practica curentă: AAC IgG calzi, AAC IgM reci, AAC IgM calzi și AAC IgG bifazici (25, 36). AAC IgA sunt foarte rari și nici un exemplu de AAC IgD sau IgE nu a fost încă descris. Este posibilă asociația mai multor tipuri de AAC, ca și modificarea clasei AAC pe parcursul evoluției bolii.

AUTOANTICORPII IgG „CALZI"

AAC de clasă IgG au optim termic la 37 °C și sunt observați la aproape 50% din cazurile de AHAI. Sunt anticorpi incompleți (neaglutinați) detectabili pe eritrocit și/sau în ser (când sunt în cantitate mare, mărturie a gravității bolii). Pe Er. sunt detectați prin testul Coombs direct, iar în ser prin testul Coombs indirect și/sau prin tratarea Er. cu proteaze (fig. 2). Subclasa IgG1 este cel mai frecvent în cauză (~70% cazuri) uneori asociată la IgG3 (~12%), IgG2 (~12%) și IgG4 (~5%) izolată sau asociată.

IgG active la cald nu fixează de regulă complementul. În consecință TCD este pozitiv cu ser anti-IgG. În cazuri rare ele pot fixa complementul și atunci TCD este de tip IgG+C_3.

AAC IgG calzi sunt în general policlonali (cu lanțuri ușoare Kappa și lambda). Se întâlnesc atât în AHAI indiopatice (~50%) cât și în formele secundare (~50%).

Specificitatea AAC de clasă IgG activi la 37 °C este față de unul sau mai multe antigene de mare frecvență (publice, izotipice sau monomorfice) din sistemul Rhésus (tabelul 1) (25). Acestea sunt antigene normal exprimate pe

Er. tuturor donatorilor sănătoși și lipsesc excepțional de pe Er. câtorva indivizi (fenotip Rh. nul). În acest caz AAC au specificitate față de alte antigene decât cele din sistemul Rh, de exemplu AAC anti-K, JK^a, Xg^a, Wr^a și En^a.

Posibilitatea existenței simultane a mai multor tipuri de AAC pe de o parte, prezența AAC cu specificitate față de antigene de mare frecvență, explică incompatibilitatea transfuziei sanguine și eficacitatea ei slabă sau nulă (prin distrugerea mai mult sau mai puțin rapidă a Er. transfuzate) (25).

Variația în timp a specificității acestor AAC la același bolnav este o constatare frecventă, care subliniază multiplicitatea, în timp și spațiu, a clonelor celulare ce le dau naștere.

AUTOANTICORPII IgM „RECI"

AAC IgM reci au frecvență mai mică decât cei IgG calzi, fiind prezenți în aproximativ 20–30% din cazurile de AHAI. Ei reacționează la temperatură mai mică decât aceea a organismului. Aproape toate serurile umane normale prezintă autoanticorpi reci în titruri slabe, mai mici de $^1/16$ în mediul salin la 4 °C (36). Numai AAC anti-Er. – cu titrul mai mare de $^1/32$ la 4 °C pot produce hiperhemoliză.

AAC IgM fixează constant complementul. Potențialul patogenic este exprimat prin aglutinarea Er. la periferia organismului și prin activarea complementului (47). Acești AAC se atașează pe Er. urmare a expunerii la temperatură scăzută, dar la 37 °C se desprind de pe acestea, lăsând pe loc moleculele de complement. De aceea TCD este pozitiv numai cu seruri anti-C_3 și anti-C_4 (5, 25, 36).

Temperatura până la care AAC IgM reci rămân atașați pe Er. desemnează un prag denumit *„amplitudine termică"* (18). În general acest prag este mai mic de 22 °C și atunci anticorpii sunt clinic silențioși. Alteori sunt activi până la 35 °C (47), conferind hemolizei un caracter sezonier, prin accentuarea hemolizei la expunere la frig. În cazuri rare AAC IgM sunt activi și la 37 °C, realizând un sindrom hemolitic permanent (chiar și în sezonul cald). Prezența lor este evocată deseori prin autoaglutinabilitatea Er. la temperatura ambiantă în prelevatul sanguin fără ca acest fenomen să fie dat exclusiv de AAC IgM.

O particularitate a aglutininelor la rece este specificitatea lor față de antigene de la suprafața Er. grupate în sistemul antigenic I/i (5, 25, 36, 47). Specificitățile anti-I și anti-IH sunt mai frecvente comparativ cu specificitățile anti-i, anti-Pr, anti-A, anti-B, anti-N, anti-M și cele mixte: anti-Hi, anti-Ai,

anti-Bi. Antigenul I este un Atg. de mare frecvență, este absent la un adult din 5 000 și se exprimă doar tranzitoriu la noul născut (25).

Variația în timp a specificității acestor AAC este de asemenea posibilă la același bolnav. Ea pare mai puțin frecventă decât pentru AAC IgG calzi și subliniază participarea simultană sau alternativă a mai multor clone celulare în producerea AAC (tabelul 2).

Prima descriere a aglutininelor la rece a fost făcută de Landsteiner în 1913. Termenul „I" a fost introdus de Wiener în 1956.

În AHAI cu aglutinine la rece Er. sunt hemolizate *în ficat,* nu în splină (25, 47). În consecință splenomegalia este rar întâlnită în AHAI la rece.

Din punct de vedere etiologic AHAI la rece se poate clasifica în forme primare (idiopatice) și forme secundare: infecțiilor, bolilor limfoproliferative, colagenozelor, neoplasmelor, medicamentelor (penicilină, unele analgezice, acid para-aminosalicilic) (tabelul 3).

Formele idiopatice se întâlnesc mai ales la persoane în vârstă (incidența maximă în jurul vârstei de 70 de ani). Bărbații sunt afectați mai frecvent decât femeile.

AAC sunt cel mai frecvent de clasă IgM monoclonali cu lanțuri ușoare Kappa și specificitate anti-I (~90% din cazuri) (47, 66). Au fost descrise și AHAI la rece de tip IgG (63). Este vorba de forme acute sau subacute care evoluează cu splenomegalie.

Aglutininele la rece pot fi secundare unor *infecții* ca: gripa, mononucleoza, malaria, parotidita epidemică, sifilis (1% din cazuri prezintă AHAI), mycoplasma pneumoniae (80% din cazuri prezintă AHAI). Ele apar după 8–25 zile, sunt de clasă IgM, policlonale, anti-I (47). Uneori, în mononucleoza infecțioasă se pot observa AAC IgG anti-i și prezența factorului reumatoid IgM anti-IgG (25).

În majoritatea acestor cazuri titrul este scăzut ($<^1/100$) și fără importanță clinică. Un număr mic de bolnavi prezintă titruri ridicate de aglutinine la rece între $^1/1\,000$ și $^1/10\,000$ cu hemoliză severă. Fenomenul este obișnuit, *autolimitat* (tranzitoriu) și transfuziile sunt necesare foarte rar.

Aglutininele la rece secundare **sindroamelor limfoproliferative sunt IgM monoclonale de tip lambda cu specificitate anti-i sau anti-Pr, produse de celulele tumorale** (66). Aceste forme cronice sunt secundare: limfoamelor non-Hodgkin, bolii Waldenström, leucemiei limfatice cronice, sarcomului Kaposi.

Au fost descrise aglutinine la rece la hemofilicii HIV pozitiv (47).

Aglutininele la rece mai pot fi secundare folosirii medicamentelor: penicilină, unele analgezice, acid para-aminosalicilic, α-metil-dopa.

La toți bolnavii cu AHAI cronică la rece, trebuie căutată și exclusă o boală limfoproliferativă.

AUTOANTICORPI IgM „CALZI”

Acești AAC au optim termic la 37 °C și se întâlnesc cu frecvență relativ scăzută (sub 20% cazuri). Sunt detectați în serul bolnavului și excepțional în eluatul eritrocitar. IgM calzi fixează constant complementul la suprafața eritrocitelor. TCD apare de tip complement.

In vitro acești AAC hemolizează Er. tratate cu proteaze la 37 °C (hemolizine calde). Titrul activității hemolizante este slab. Detectarea acestor hemolizine este realizată mai bine, utilizând Er. bolnavilor cu hemoglobinurie paroxistică nocturnă care se caracterizează prin hipersensibilitate la liză prin complement. În unele din aceste cazuri AAC au specificitate anti-I sau anti-i. În alte cazuri AAC IgM calzi sunt caracterizați prin caracterul hemolitic in vitro la pH 7,3. Acestor hemolizine neutre nu li s-a atribuit până în prezent nici o specificitate.

Semnificația clinică a acestor AAC este diferită. Deseori survin în cursul hemolizei severe, chiar mortale. Alteori sunt descoperiți întâmplător la un donator de sânge în plină sănătate (25).

AUTOANTICORPII IgG „BIFAZICI”

Hemolizinele bifazice descrise de Donath și Ladsteiner sunt responsabile de hemoglobinuria paroxistică a frigore. Ele se întâlnesc cu o frecvență foarte mică de aproximativ 1% din cazurile de AHAI.

Acești AAC au fost numiți „hemolizine bifazice” datorită comportamentului lor specific „în doi timpi”: autoanticorpul și complementul se fixează pe Er. în general la o temperatură mai mică de 20 °C (dar în anumite cazuri amplitudinea termică de fixare poate depăși 25 °C). La 37 °C AAC se desprinde de pe Er. pe care rămâne fixat în continuare complementul care se activează până la C9, antrenând hemoliza eritrocitelor. Din această cauză TCD la 37 °C este de tip C_3 izolat. Executat la 4 °C TCD este pozitiv tip IgG.

Specificitatea AAC IgG bifazici este frecventă față de antigenul public eritrocitar P, prezent la indivizii P_1 și P_2 sau mai rar Ii și p (25).

Hemoglobinuria paroxistică a frigore poate fi idiopatică sau secundară sifilisului cronic la adult și infecțiilor virale la copii.

FIZIOPATOLOGIA HEMOLIZEI AUTOIMUNE

AHAI este determinată de fixarea AAC anti-Er. la suprafața Er. Prin studierea duratei de viață a Er. transfuzate s-a constatat că: Er. care posedă Atg. corespunzătoare AAC prezintă o scurtare a duratei de viață, Er. care nu posedă Atg. corespunzător AAC au o durată de viață normală.

La distrugerea Er. in vivo participă mai mulți factori: concentrația AAC anti-Er., optimul termic și afinitatea acestora pentru antigenele eritrocitare, natura și clasa imunoglobulinei (Ig) implicate, capacitatea Ig de a fixa sau nu complementul, numărul și topochimia situsurilor antigenice pe Er., capacitatea de epurare a sistemului reticuloendotelial. Numărul mare al factorilor ce intervin în distrugerea imună a Er. explică de ce există AAC care nu produc hemoliză. De aceea egalitatea AAC=AHAI este prea simplistă (25, 56).

Fiziopatoligia hemolizei autoimune comportă două aspecte importante:

- mecanisme de apariție a AAC anti-Er.;
- mecanisme de distrugere (liză) in vivo a Er. învelite cu AAC anti-Er.

MECANISMELE APARIȚIEI AAC

Diversitatea AAC anti-Er., mono- sau policlonalitatea lor, variația în timp a specificității antigenice, tulburările imunologice asociate, contextul clinic și evolutiv în care survin acestea, conduc la concluzia că mecanismele apariției AAC anti-Er. sunt multiple. În ciuda acumulării a numeroase fapte de observație, uneori foarte sugestive, mecanismele propuse sunt încă relativ ipotetice. Aceste mecanisme pot fi regrupate astfel:

- alterarea membranei Er.;
- răspuns imun normal și reactivitate încrucișată;
- perturbarea sistemului imunitar central.

Ipoteza alterării antigenelor membranei Er. se sprijină pe mai multe observații. La animal AAC anti-Er. pot fi produși ca urmare a injectării:

- Er. autologe alterate în prealabil prin căldură sau formol;

sau a administrării de

- Er. de la o altă specie.

Astfel, AAC reci anti-I au putut fi produşi la iepure, ca urmare a injectării de Er. umane incubate în prealabil în prezenţa Mycoplasmei pneumoniae.

O altă situaţie o reprezintă inducerea apariţiei antigenelor criptice T sau Tn (numite de „poliaglutinabilitate") sub efectul unor enzime bacteriene (10, 36). Anticorpii naturali anti-T, sau anti-Tn, care sunt prezenţi în mod normal în plasma umană, vor reacţiona cu Er. proprii astfel modificate provocând distrugerea prematură a acestora (fenomenul Huebener-Thomsen-Friedenreich).

• AAC recunosc nu numai Atg.Er. autologe, ci şi pe cele ale indivizilor sănătoşi. Astfel s-a putut demonstra prin măsurători termodinamice că structura antigenului B de la indivizi cu auto-anticorpi anti-B este normală.

• Ipoteza alterării Atg. Er. pare aplicabilă în unele AHAI acute, tranzitorii, care survin într-un context infecţios cu evoluţie regresivă sau recăderea ducând la apariţia infecţiei şi a AAC anti-Er. concomitent.

RĂSPUNS IMUN NORMAL ŞI REACTIVITATE ÎNCRUCIŞATĂ

A doua ipoteză are la bază asemănarea între structura antigenelor membranei Er. şi aceea a microorganismelor agresoare exterioare.

• Astfel infecţia cu Lysteria monocitogenes provoacă la iepure apariţia pasageră de aglutinine la rece anti-Er. care, in vitro, reacţionează cu microorganismul imunizant. La şoarece (I-negativ) infecţia cu Mycoplasma pneumoniae provoacă apariţia aglutininelor la rece anti-I.

• La om AAC anti-I asociaţi cu infecţia cu Mycoplasma pneumoniae au putut fi inhibaţi printr-un lipopolizaharid extras din acest germene iar hemolizinele bifazice anti-P reacţionează nu numai cu globozidul P ci şi cu glicolipidul Forssman a cărui structură chimică este foarte asemănătoare.

• Tot la om, se cunosc alloanticorpi apăruţi ca urmare a contactului cu:

– anumite structuri polizaharidice (anti-A, anti-B);
– anumite bacterii Gram negativi (anti-Kell);
– anumiţi paraziţi (anti-P_1) (36).

Aceşti alloanticorpi au reacţionat in vitro cu extracte ale microorganismelor.

• Ipoteza antigenelor crossreactante poate interveni în cursul infecţiilor acute tranzitorii pe un teren indemn, ca urmare a unei stimulări exogene decelabile (25).

DISFUNCȚIA IMUNITARĂ CENTRALĂ

Apariția AAC anti-Er. fără intervenția activă a Er., într-o AHAI prelungită sau cronică, se bazează pe ipoteza unei dereglări imunitare centrale.

Cel puțin jumătate din AHAI prelungite se asociază unei boli limfoproliferative (leucemie limfatică cronică, macroglobulinemie, mielom multiplu), unei colagenoze (lupus eritematos sistemic) sau altei afecțiuni cu componentă autoimună (rectocolită hemoragică, tiroidită, boală Biermer) (5, 25, 64, 66).

Un alt argument se bazează pe existența concomitentă a două tipuri de AAC anti-Er., IgG și IgM recunoscând deseori antigene Er. multiple (e+ul+pdl, I+Pr, AI+BI+I, ...) (61).

Variația naturii și specificității AAC anti-Er. care survine în cursul evoluției bolii, elimină responsabilitatea Er. în inducerea autoimunizării.

Un alt indiciu al perturbării imunitare centrale este frecvența și multiplicitatea tulburărilor imunologice asociate AAC anti-Er. Astfel se citează asocierea AHAI cu:

- anticorpi anti-plachetari (sindromul Evans);
- anticorpi anti-nucleari;
- factor reumatoid;
- deficite cantitative în Ig;
- anticorpi unici sau multipli cu specificitate față de Atg. private de grup sanguin pe care bolnavul nu-l posedă și nu l-a întâlnit în mediul înconjurător (25).

La baza dereglării nespecifice a celulelor formatoare de anticorpi (care sunt fie hiperstimulate fie deprimate) pare să fie o agresiune virală pe un teren cu deficit imun sau un model al sindromului de grefon contra gazdă. Aceasta se reflectă în dezechilibrul important al diverselor subpopulații limfocitare.

O ipoteză deja documentată la om în lupusul eritematos sistemic foarte asemănător cu AHAI idiopatică și la șoarece NZB, o constituie activarea limfocitelor B printr-o scădere a funcției supresoare a limfocitelor Ts.

Argumente suplimentare în favoarea concepției disfuncției imunitare centrale sunt oferite de AHAI spontană a șoarecelui NZB prin analogie cu AHAI umană.

Predispoziția familială, asociația frecventă a AAC anti-Er. cu anticorpii antinucleari și hemopatiile limfoide apropie boala umană de modelul murin.

La șoarecele NZB au fost deja demonstrate: deficitul în hormon timic și în limfocite T supresoare (Ts).

Studii ulterioare vor permite clarificarea ipotezei mecanismului central de apariție a AAC în AHAI.

MECANISMELE HEMOLIZEI AUTOIMUNE

Mecanismele hemolizei autoimune comportă două etape:

1) prima etapă constă în sensibilizarea Er. de către AAC cu specificitate pentru antigenele corespunzătoare;

2) etapa a doua constă în distrugerea Er.

Hemoliza imună poate avea loc intratisular (sau „extravascular") – mediată de sistemul macrofagic – sau intravascular – mediată de sistemul complement. Tipul de hemoliză depinde de capacitatea AAC de a fixa complementul și de prezența pe macrofage a receptorilor specifici pentru complement și pentru fragmentul Fc al IgG_1 și IgG_3.

După atașarea pe antigen, AAC de clasă IgM fixează rapid complementul: o singură moleculă IgM fixată poate activa C_{1q} (5).

În cazul AAC IgG afinitatea pentru complement este mare pentru IgG_3 (+++), medie pentru IgG_1 (+), foarte slabă pentru IgG_2 (±) și nulă pentru IgG_4 (5, 25, 36). În plus, pentru activarea lui C_{1q} de către IgG sunt necesare două molecule de Ig care să fie fixate pe hematie la o distanță mai mică de 30 nm. Această condiție nu se realizează în cazul AHAI cu anticorpi la cald de tip IgG anti-Rh, deoarece moleculele acestui sistem antigenic sunt mult mai spațiate (100–300 nm pentru antigenele D).

Două mecanisme principale mai bine studiate ar media distrugerea in vivo a Er. învelite cu AAC:

1) eritrofagocitoza prin aderență opsonică (AAC IgG – nefixatori de complement);

2) hemoliza dependentă de complement (AAC IgM și IgG – fixatori de complement).

ERITROFAGOCITOZA PRIN ADERENȚĂ OPSONICĂ

Când Er. sunt sensibilizate cu un AAC IgG_1 sau IgG_3 (singurele subclase pentru care macrofagele umane posedă receptor Fc) care nu au fixat complement, se produce o interacțiune între fragmentul de Fc al AAC și receptorul Fc al membranei macrofagelor din cordoanele splenice. Acesta este fenomenul „aderenței opsonice" care favorizează fagocitoza Er. învelite cu AAC IgG nefixatori de complement.

Importanța mecanismului de imunoaderență în potențarea fagocitozei mediate de macrofagele splenice este subliniată de următoarele observații: in vitro, eritrocitele învelite cu IgG se atașează pe macrofage sau pe monocite formând imagini de rozete (3); injectarea unui eșantion de eritrocite autologe pe care s-au cuplat in vitro fragmente F $(ab')_2$ de IgG nu este urmată de

eliminarea lor mai rapidă din circulaţie; în schimb, repetarea acestui model cu eritrocite autologe sensibilizate cu molecule întregi de anticorpi conduce la o hemoliză rapidă; ataşarea pe macrofage a eritrocitelor învelite cu IgG poate fi blocată şi parţial reversată pentru un timp dacă în plasmă există titruri de IgG_1 şi IgG_3; acest mecanism este exploatat în terapeutică prin injectare i.v. de Ig.: Eritrocitele ataşate pe macrofage:

- pot rămâne fixate un timp, după care sunt eliberate, fără să fi suferit alterări decelabile; în consecinţă vor păstra o durată de supravieţuire normală;
- pot suferi o fagocitoză parţială cu pierderea unui număr limitat de molecule din lipide şi de proteine din membrană. Porţiunea nefagocitată se detaşează sub formă de microsferocit rigidizat, care va fi reţinut în splină la o nouă trecere prin cordoanele pulpei roşii;
- pot fi fagocitate complet şi digerate de către macrofage (23).

Această capacitate diferită de prelucrare a eritrocitelor este dictată macrofagelor de limitele fizice ale procesului fagocitozei. După ataşarea unui eritrocit, macrofagul emite un număr de procese membranare care învelesc progresiv celula respectivă până ce, în final, o încorporează (fig. 5). Prin aceasta

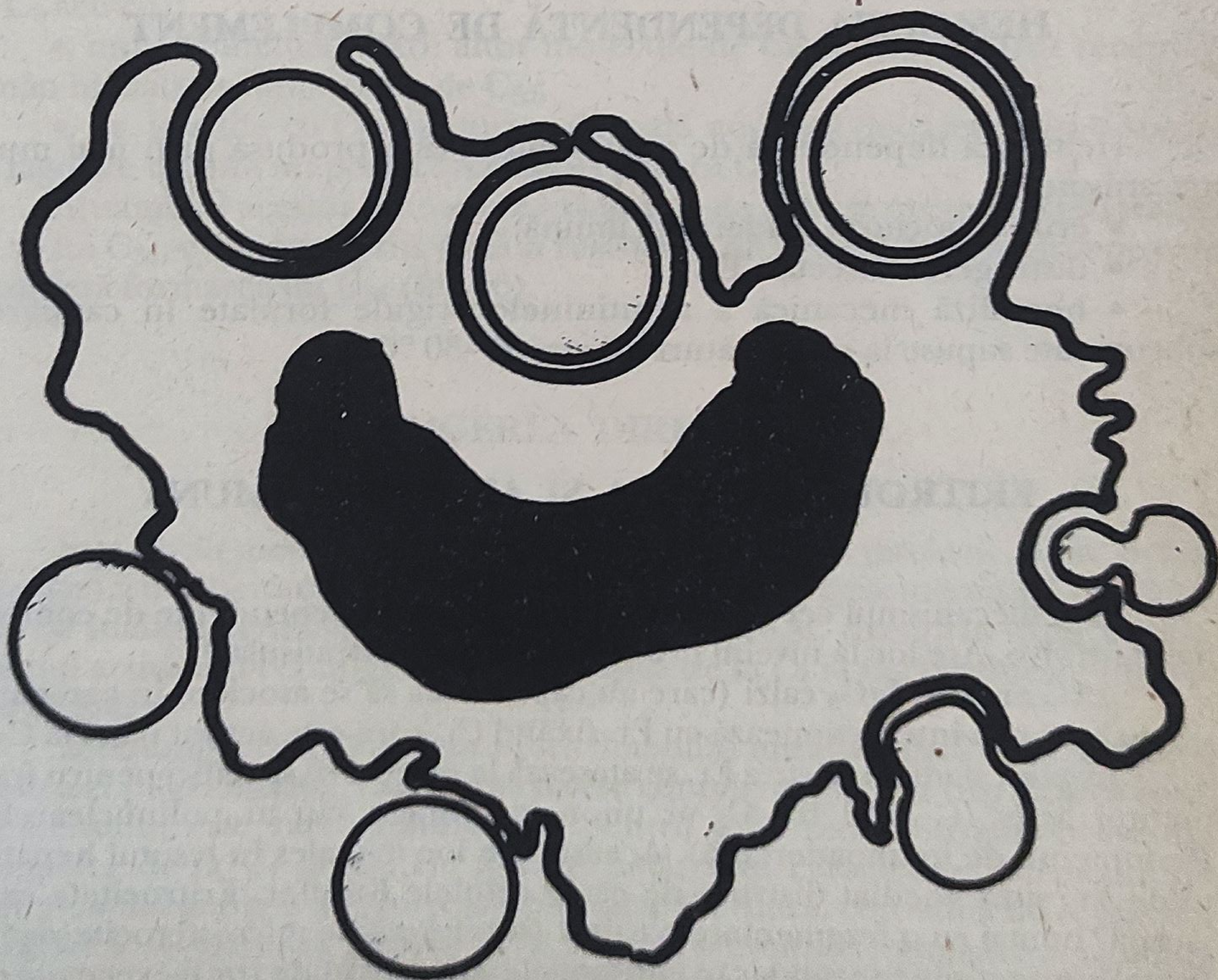


Fig. 5. Eritrofagocitoza de către macrofag.

macrofagul suferă o depleție membranară. Pe suprafața unui macrofag se atașează concomitent mai multe eritrocite sensibilizate dar din cauza consumului de membrană un macrofag nu poate fagocita mai mult de 3–5 eritrocite într-o unitate de timp după care ar deveni incapabil să încorporeze alte celule (29).

Există unele constatări dificil de explicat numai prin eritrofagocitoză:

- existența unor AAC IgG_1, care în ciuda titrului lor ridicat, nu provoacă hemoliză;
- anumiți AAC IgG hemolizanți in vivo, nu reacționează in vitro cu nici unul din reactivii anti-subclasă IgG;
- deși macrofagele nu par să aibă receptori Fc pentru IgA, există AAC IgA care provoacă hemoliza la nivel splenic și o fragilitate osmotică crescută;
- hemoliza prin AAC nefixatori de complement continuă să se producă la unii bolnavi splenectomizați, mai ales la nivelul ficatului.

Unele din aceste constatări ar putea fi explicate prin citoliză de către monocitele efectoare, probabil sub efectul liberării enzimelor lor lizozomale (25).

HEMOLIZA DEPENDENTĂ DE COMPLEMENT

Hemoliza dependentă de complement este produsă prin mai multe mecanisme:

- eritrofagocitoză și aderență imună;
- distrugerea directă a Er.;
- hemoliză mecanică a aglutininelor rigide formate în capilarele subcutanate supuse la temperaturi scăzute 20–30 °C.

ERITROFAGOCITOZA ȘI ADERENȚA IMUNĂ

Este mecanismul cel mai frecvent al hemolizei dependente de complement, in vivo. Are loc la nivelul ficatului și splinei (intratisular).

AAC anti-Er. IgG_3 calzi (care au capacitatea să se asocieze în agregate) și/sau IgM reci interacționează cu Er. fixând C_{1q} care este activat până la C_3.

În acest stadiu o parte a Er. se atașează la receptorii specifici pentru fragmentul activ (C_{3b}) al lui C_3 ai unor macrofage sau ai polinuclearelor (fenomenul de imunoaderență). Aceasta are loc mai ales în țesutul hepatic, unde Er. sunt imediat distruse de către celulele Kupffer. Eritrocitele care „scapă” numai cu o fragmentare parțială (sub formă de microsferocite rigidificate) sunt reținute secundar în cordoanele splenice unde vor fi executate de macrofagele rezidente.

Brown și colaboratorii au arătat rolul determinant al lui C_8 în această secvență, injectând la iepuri normali și deficitari în C_6 și C_8, aglutinine la rece IgM anti-I uman (Er. de iepure posedă antigenul I). La iepurii normali această injecție provoacă o hemoliză intra- și extravasculară în același timp, prin distrugerea directă a Er. prin activarea complementului până la C_9 (C_{1-9}) și fagocitoza Er. cu activarea complementului până la C_3 (C_{1-3}). La iepurii deficitari C_6 se observă numai hemoliză extravasculară și aderența Er. la celulele Kupffer hepatice, iar la iepurii deficitari în C_3 (C_{1-4}), în ciuda prezenței AAC IgM anti-I injectat, supraviețuirea Er. rămâne normală.

O parte dintre Er. C_{3b}+ scapă fagocitozei, datorită sistemului inactivator al lui C_{3b} care degradează această moleculă în 2 particule inactive C_{3c} și C_{3d}. C_{3d} rămâne atașat în continuare pe Er. Er. învelite cu C_{3d} se reîntorc în circulație după o scurtă sechestrare hepatică.

Formarea lui C_{3d} la suprafața Er. are ca urmare următoarele fenomene care limitează hemoliza prin IgM+C:

- revenirea la normal a deformabilității Er., suprimând unul din factorii favorizanți ai fagocitozei și anume rigiditatea dobândită (legată de prezența lui C_3 activat);
- imposibilitatea fixării altor molecule de C_3 pe Er., ai căror receptori rămân blocați pe moleculele de C_{3d};
- Er. învelite cu C_{3d} au durata de viață normală deoarece nici o specie de fagocite umane nu posedă receptori pentru C_{3d}.

Ansamblul acestor fenomene explică pe de o parte prezența la suprafața Er. al lui C_{3d}, evidențiat prin TCD și rezistența progresivă la hemoliză pe care o conferă formarea lui C_{3d} (25, 66).

DISTRUGEREA DIRECTĂ A Er.

Este un alt mecanism de distrugere a Er. direct în vasele de sânge (intravascular), cu eliberare consecutivă de Hb. în plasmă. Acest mecanism este mult mai rar întâlnit în AHAI. [Se observă atunci când AAC fixează in vitro complementul activându-l complet pe calea clasică de la C_1 la C_9, producând hemoliză (fig. 6)].

AAC anti-Er. capabili să producă hemoliză intravasculară sunt: IgM reci, IgM calzi și IgG bifazici, capabili să fixeze complementul. In vivo fixarea complementului este rareori suficientă pentru a antrena activarea secvenței complete de la C_1 la C_9. De fiecare dată când caracterele intrinseci ale complexului antigen-anticorp (amplitudinea termică, constanta de echilibru, cantitate) favorizează fixarea și activarea secvenței complete a complementului – C (C_1–C_9) se produce alterarea membranei Er., cauză directă de hemoliză rapidă intravasculară.

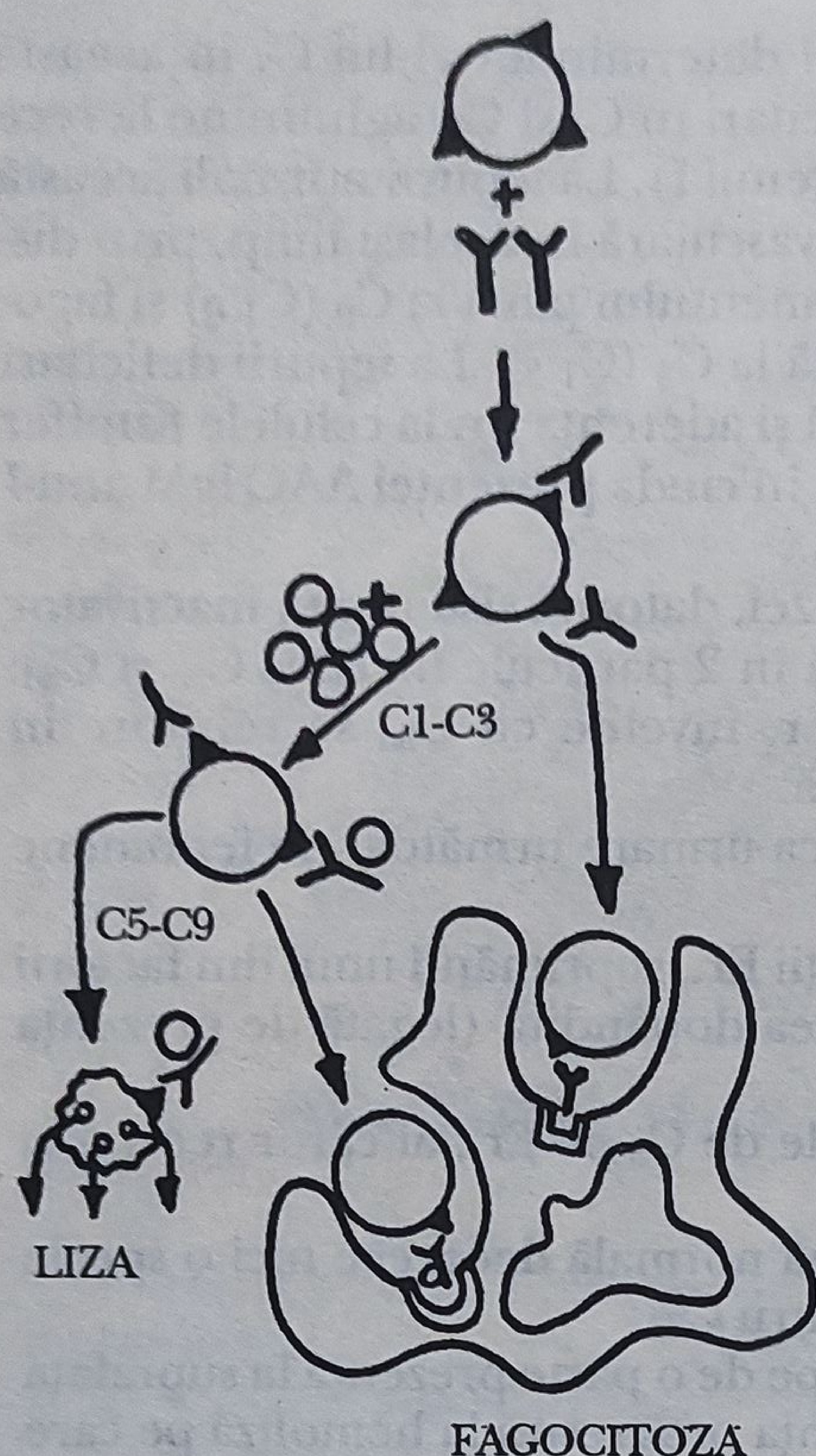


Fig. 6. Mecanismele distrugerii Er. în AHAI. Er. pot fi distruse direct prin activarea complementului de la C_1 la C_9. Mai frecvent, AAC opsonizează Er. eventual cu ajutorul complementului (C_1–C_3) prin aderență imună favorizează fagocitoza de către macrofage (după J.F. Bach).

(C_{3b} este substratul a 2 enzime – „C_3-convertazele", care se asamblează în etapele inițiale ale activării C prin calea clasică și, respectiv, prin calea alternativă; în domeniul discutat aici, C_{3b} se poate uni cu convertaza căii clasice – C_{4b2b} aceasta scindează C_5 în 2 fragmente din care C_{5b} – care rămâne atașat pe membrana celulei-țintă – va adiționa succesiv componentele C_6, C_7 și C_8 într-un macro-complex care atașează pe C_9 pe suprafața celulei și catalizează formarea unui polimer C_9 tubular inserat în membrană; acest polimer C_9 este denumit „complexul de atac al membranei" deoarece provoacă soluții de continuitate care duc la liza celulei atacate (53). Acest mecanism operează uneori în AHAI cu IgM la rece și totdeauna în hemoglobinuria paroxistică a frigore cu anticorpi bifazici.

Autoaglutinarea Er. in vivo a putut fi ușor observată în capilarele subcutanate de la periferia corpului. În aceste teritorii AAC IgM reci cu amplitudine termică ridicată produc aglutinarea Er. dacă bolnavul este expus la temperaturi scăzute. Prin aceasta se realizează obstrucții ale vaselor mici,

manifestate prin acrocianoză, parestezii și/sau degenerări trofice tegumentare. Pierderea secundară a elasticității autoaglutinatelor Er. este un factor esențial al hemolizei mecanice.

SEDIUL DISTRUGERII Er.

Hemoliza intravasculară (HIV) este rar întâlnită în AHAI. Er. sunt rapid distruse direct în vasele de sânge.

HIV este produsă de: 1) *AAC hemolizanți:* IgM reci, IgM calzi, IgG bifazici care provoacă fixarea și activarea completă a complementului de la C_1 la C_9; 2) *AAC IgG* prin liza limfocitară directă dependentă de complement.

Hemoliza extravasculară (HEV) este mult mai frecventă în AHAI. Distrugerea Er. se produce în spațiul extravascular, lent, prelungit. HEV se asociază aproape totdeauna cu HIV. HEV se realizează prin mecanismele:

1) aderență opsonică prin AAC IgG nefixatori de complement;
2) imunoaderență prin AAC fixatori de complement (IgG calzi și IgM reci);

Tabelul 1

Specificitatea anti-publică a autoanticorpilor IgG (după Habibi) (5)

Er.	Anti-:									
	nl	pdl	dl	LW	U	Wr^b	En^a	Kp^b	K^U	K13
Fenotipuri comune	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D../D..	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rh.../...	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
Rh normal LW-	+	+	+	–	+	+	+	+	+	–
U-	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
En (a-)+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+
En (a+) Wr(b-)	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+
Kp(a+b-)	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
Ko- +	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
K normal K 13-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–

Tabelul2

Modificarea evoluției imaginii imunohematologice (după B. Habibi) (5)
Modificarea clasei AAC anti-Er. și a specificității lor pe parcursul evoluției AHAI

Bolnav	Luni de observație	TCD -IgC	anti -C	AAC anti-	IgG 37 °C titrul	AAC anti-	IgM 4 °C titrul
AHAI cronică idiopatică cortico-sensibilă	1	+++	–	dl	2	–	0
	3	++	+	dl	2	Ii	512
	6	+	+	dl	1	Ii	16
	21	+++	++	dl	8	Ii	512

Tabelul 3

Principalele boli asociate AHAI

AAC calzi	AAC reci
– AHAI IDIOPATICĂ(50%) – AHAI SECUNDARĂ (50%)	– AHAI IDIOPATICĂ (10%) – AHAI SECUNDARĂ (90%)
● Boli autoimune: Lupus eritematos sistemic Dermatomiozită Periarterită nodoasă Sclerodermie Poliartrită reumatoidă Sindrom Sjögren Miastenie Rectocolită hemoragică Sarcoidoză Boala Basedow Hipotiroidie Anemie Biermer	● Hemopatii maligne: Leucemie limfatică cronică Boala Waldenström Limfoame maligne non-Hodgkin ● Ciroză hepatică ● Infecții: Mycoplasma pneumoniae Mononucleoză infecțioasă Influenza Spirocheta Trypanosoma Oreillon Malaria Gripa Hiv
● Hemopatii limfoide: Leucemie limfatică cronică Limfoame non-Hodgkin Mielom multiplu Boala Hodgkin	● Hemoglobinurie paroxistică a frigore: – Idiopatică – Infecțioasă (Sifilis, Virus)
● Infecții virale: Hepatite Citomegalovirus Mononucleoză infecțioasă Oreillon Zona Varicelă Gripă	● Colagenoze: Lupus eritematos sistemic ● Neoplasme: Ovar, Pulmon, Colon Sarcom Kaposi

Tabelul 3 (continuare)

AAC calzi	AAC reci
● Tumori benigne sau maligne:	● Medicamente
Chist dermoid de ovar	Penicilina
Teratom sau carcinom de ovar	Para-aminosalicilic
Teratom mediastinal	Analgezice
Chist mezenteric	
Tumori renale	
Cancer de cec	
Histiocitom	
● Medicamente:	
Alfa metil dopa	
L-dopa	
Acid mefenamic	

3) eritrofagocitoza prin alterarea elasticității membranei Er. datorită autoaglutinării in vivo.

Splina este sediul preferențial al distrugerii Er. de către macrofage, mai ales când Er. sunt sensibilizate de către AAC IgC sau IgA nefixatori de complement.

Ficatul este sediul preferențial al distrugerii Er. de macrofage, când Er. sunt sensibilizate prin IgG și IgM fixatori de complement, sau în absența splinei.

ASPECTE CLINICE ALE AHAI

Sunt determinate în foarte mare măsură de proprietățile imunochimice ale AAC, pe baza cărora AHAI sunt împărțite în două grupe mari: AHAI cu AAC la cald și AHAI cu AAC la rece.

AHAI cu AAC la cald reprezintă cam 70% din totalul AHAI. Ele se subdivid, la rândul lor, în forme idiopatice, mai rare (≤ 50% din cazuri) și forme secundare mai frecvente (50–80% din cazuri) (65). Bolile care provoacă AHAI cu AAC la cald sunt enumerate în tabelul 4. Majoritatea AHAI secundare sunt datorate bolilor limfoproliferative cronice (cca 50% din cazuri) și bolilor cu componentă autoimună (LED, în special). În aceste situații, AHAI poate

precede (cu luni sau ani) instalarea semnelor bolii de bază, poate fi prezentă de la diagnosticul acesteia sau poate surveni ca o complicaţie tardivă a evoluţiei bolii primare. Relativ frecvent ar fi şi AHAI induse de alfa metil dopa. Conform ipotezei acceptate, acest medicament ar provoca un dezechilibru al limfocitelor T (cu un deficit secundar al funcţiei supresoare), din care ar rezulta o diminuare a controlului exercitat asupra limfocitelor B autoreactive producătoare de AAC. Teoria se sprijină pe observarea apariţiei mai multor tipuri de AAC după administrarea medicamentului: factor antinuclear, factor reumatoid, leuco- sau tromboaglutinine şi AAC antieritrocitari. Aceştia din urmă apar la 15–20% dintre hipertensivii astfel trataţi, dar induc hemoliză numai la 1% din cazuri. Această discrepanţă s-ar explica printr-o inhibare concomitentă a macrofagelor indusă de medicament ceea ce, evident, ar stânjeni mecanismele efectoare care provoacă hemoliza prin anticorpi la cald (12).

Tabelul 4

AHAI cu AAC la cald

1. Idiopatice
2. Secundare
   - 2.1. Boli limfoproliferative cronice:
     Leucemie limfatică cronică
     Limfoame non-Hodgkin, boala Waldenström, mielom multiplu, boala Hodgkin, unele timoame
   - 2.2. Neoplasme solide: ovar, sân, pulmon, colon, uter, rinichi.
   - 2.3. Alte boli cu patogeneză autoimună:
     Lupus eritematos diseminat, artrită reumatoidă, sclerodermie, colită ulcerativă, tiroidită
   - 2.4. Sindroame de imunodeficienţă
   - 2.5. Infecţii virale
   - 2.6. Medicamente: alfa metil dopa, acidul mefenamic

AHAI idiopatică (primară) poate fi observată la toate grupele de vârstă şi cu o oarecare preponderenţă la sexul feminin (65). Manifestările clinice sunt variabile. Prezentarea comună este aceea a unei anemii care se instalează relativ lent, se exprimă prin triada paloare, subicter şi hipercromie urinară, şi evoluează luni sau ani, cu oscilaţii de severitate imprevizibile (totuşi, într-o minoritate de cazuri au fost citate şi remisiuni spontane). În formele cronice se dezvoltă o splenomegalie moderată. În cazuri rare debutul poate fi exploziv cu hipertermie, adinamie, dispnee şi paloare severă, însoţită de icter franc şi uneori de hemoglobinurie. AHAI idiopatică este un diagnostic de excludere: formele cu debut acut trebuie suspectate ca fiind secundare unor viroze iar

descoperirea unei splenomegalii importante, o dată cu diagnosticul, impune în mod obligatoriu aplicarea unui protocol de investigații centrat pe descoperirea unei boli limfoproliferative.

La inspecția frotiurilor de sânge se constată policromazie și prezență de eritrocite care prezintă stigmatele provocate de contactele tranzitorii cu macrofagele splenice: ombilicări, mici proiecții digitiforme, sfericitizare. Tot ca expresie a hemolizei extravasculare, în măduva osoasă pot apare imagini de eritrofagocitoză în macrofagele locale care apar în număr crescut (6). În plus măduva osoasă poate revela uneori existența unei limfoproliferări de mică intensitate, secundară dereglării imune responsabile de distrucția eritrocitară. Descoperirea însă, a unui infiltrat limfoid pronunțat evocă mai degrabă existența unei boli limfoproliferative.

Principalele elemente ale diagnosticului sunt reproduse în tabelul 5. TCD este elementul cheie al diagnosticului (vezi pag. 15 mai sus). Uneori pot exista în ser AAC liberi, nefixați pe Er. care se evidențiază cu ajutorul testului Coombs indirect (cu ser anti IgG). Acest aspect are semnificație prognostică nefavorabilă, deoarece exprimă o încărcătură enormă a circulației cu molecule de AAC ale căror număr depășește pe acela al antigenelor Rh.

Tabelul 5

AHAI cu AAC la cald (date esențiale pentru diagnostic)
● paloare+subicter
● microsferocite pe frotiul de sânge
● test Coombs direct pozitiv cu ser antiglobulinic total și cu ser monospecific anti-IgG

Tratamentul formelor primare vizează blocarea mecanismelor hemolizei. El începe prin administrarea unor doze mari de *glucocorticoizi* (Prednison 1–2mg/kg/zi) care au capacitatea de a supresa rapid RFcγ ai macrofagelor splenice și, în timp, de a inhiba proliferarea limfocitelor autoreactive și a producției de AAC. Răspunsuri prompte (din primele 7–10 zile) se observă la circa 80% din cazuri, cu ameliorarea dramatică a stării clinice și cu creșterea hemoglobinei. După obținerea remisiunii se începe scăderea lentă (săptămâni) a dozelor. Circa 20% din cazuri mențin remisiunea completă (permițând întreruperea terapiei), dar în alte 30–50% cazuri este necesară menținerea unei doze zilnice de întreținere care să asigure controlul hemolizei. Bolnavii care nu pot suporta corticoterapia, cei care demonstrează rezistență primară sau răspunsuri parțiale menținute doar cu doze mari ca și cei care dezvoltă complicații ale corticoterapiei constituie lotul candidaților la *splenectomie*. Aceasta induce răspunsuri pozitive

(complete şi parţiale) în 85% din cazuri. Eşecul după splenectomie sau contraindicaţiile acesteia impun introducerea unei *imunoterapii* cu Ciclofosfamidă p.o. 100–150 mg/zi *sau* cu Imuran p.o. 125 mg/zi. Cu această „a III-a" linie de tratament se pot obţine ~ 40% răspunsuri pozitive.

Eficienţa funcţiei RFcγ ai macrofagelor splenice poate fi redusă şi prin administrare de Danazol (1) sau de imunoglobuline i.v. (43) (după care se obţin adesea răspunsuri pasagere).

Transfuziile cu masă eritrocitară sunt indicate numai la bolnavii care sunt în risc vital din cauza severităţii anemiei (50). Titrurile serice crescute de AAC care produc pozitivarea testului Coombs indirect, pot fi cauza îngreunării alegerii donatorilor compatibili (reacţionează cu multe eşantioane de Er.). În astfel de situaţii trebuie exclusă prezenţa eventuală a alloanticorpilor (întâlniţi la >20% din cazurile care au fost transfuzate) (21).

Tratamentul formelor secundare se adresează în principal bolii de bază, cu asocierea corticoperapiei. Întreruperea administrării alfa metil dopa este urmată de stingerea relativ lentă (săptămâni) a hemolizei.

AHAI CU AAC LA RECE

Se prezintă, în funcţie de specificul de acţiune al AAC, sub 2 forme clinice: boala cu aglutinine la rece şi hemoglobinuria paroxistică „a frigore":

Boala cu aglutinine la rece (BAR) este indusă de IgM, fixatoare de C', cu afinitate maximă pentru antigenele eritrocitare I sau i, care provoacă hemaglutinare constantă in vitro la +4° C şi facultativă in vivo dacă au amplitudine termică ridicată (>32° C). Aglutinine reci, există, în titruri mici, la un procent redus de persoane normale, procent care creşte cu vârsta ceea ce ar putea fi corelat cu incidenţa mai mare a BAR la vârstnici. BAR se poate prezenta ca o boală primară (idiopatică) sau secundară (tabelul 6).

Pneumonia cu mycoplasma şi mononucleoza infecţioasă sunt infecţiile care se complică cel mai frecvent cu AHAI cu aglutinine reci.

Titrul AAC creşte în săptămâna a doua şi a treia de boală, dar numai o minoritate dintre bolnavi fac AHAI (≤ 3% în cazul mononucleozei infecţioase). AAC sunt policlonali şi dispar spontan. AHAI este de regulă blândă şi nu necesită ca tratament decât repaus în atmosferă caldă. În cazuri rare, infecţia cu mycoplasma provoacă o AHAI acută, care necesită terapie energică şi transfuzii cu suspensie eritrocitară încălzită. În BLPC se produc autoaglutinine la rece de tip monoclonal, cu specificitate anti-i. AHAI este adesea de mică intensitate, astfel că poate fi pusă în umbră de manifestările bolii de bază. Aşa cum am semnalat mai sus, AHAI poate deschide scena

Tabelul 6

Tipurile de BAR

1. Idiopatice
2. Secundare
   - 2.1. Infecții cu: mycoplasma pneumoniae, virus Epstein Barr, virus citomegalic, influenza, trypanosoma, spirocheta.
   - 2.2. Boli limfoproliferative cronice (BLPC):
     Leucemia limfatică cronică
     Limfoame maligne non-hodgkiniene
     Boala Waldenström
   - 2.3. Alte neoplasme: ovar, pulmon, colon, sarcom Kaposi.
   - 2.4. Colagenoze: Lupus eritematos diseminat

manifestărilor unei BLPC. De aceea, este obligatoriu ca toți pacienții cu AHAI aparent idiopatică să fie cercetați pentru descoperirea unei eventuale limfoproliferări maligne criptogenetice: aceasta poate fi pusă în evidență în aproximativ 1/3 din cazuri (62).

Formele primare de BAR au o prezentare clinică variată: BAR fără hemoliză (în care AAC IgM se acumulează în plasmă și provoacă tulburări ale vâscozității și scurgerii sângelui), BAR cu hemoliză ușoară sau medie (formele cele mai frecvente) și BAR cu hemoliză severă (complicată uneori chiar cu hemoliză intravasculară cu hemoglobinurie). Această versatilitate este corelată cu titrul AAC, cu temperatura ambientală și cu temperatura maximă până la care AAC este capabil să rămână atașat pe membrana Er. (aceasta joacă un rol important în determinarea abilității AAC de a iniția activarea C) (55). Forma comună se manifestă prin hemoliză ușoară/medie, fără splenomegalie. Aglutinarea in vivo este posibilă în teritoriile expuse la temperaturi scăzute (nas, obraji, urechi, mâini etc) și se manifestă prin acrocianoză, parestezii sau modificări trofice tegumentare (aspect cadaveric, degenerare trofică sau chiar necroză).

Tabelul 7

BAR: date esențiale pentru diagnostic

- test Coombs direct cu ser anti C_{3d} pozitiv
- test Coombs indirect cu ser anti IgM pozitiv
- test de aglutinare in vitro pozitiv

Datele esențiale pentru diagnostic sunt prezentate în tabelul 7. Markerul procesului este prezența moleculelor de C_{3d} pe suprafața Er. Acestea sunt decelate prin TCD cu ser monospecific anti C3d (vezi pag.18 mai sus).

Pe frotiurile de sânge se observă microsferocite şi policromazie. Examinarea preparatelor poate fi îngreunată de aglutinarea pe lamă a Er., la temperatura camerei.

Tratamentul constă din încălzirea bolnavului, imunosupresie (Ciclofosfamidă, 100–200 mg/zi, p.o. sau Clorambucil 2–4 mg/zi, p.o.) şi plasmafereze. Transfuziile se evită pe cât este posibil: nefiind protejate de existenţa de molecule de C_{3d} pe suprafaţa lor, Er. transfuzate sunt lizate intravascular (66). Se recomandă ca testele de compatibilitate să se execute la 37°C iar eşantioanele transfuzate să fie preîncălzite.

Hemoglobinuria paroxistică a frigore (HPF) este indusă de anticorpii descrişi de Donath şi Landsteiner, o specie de IgG care se comportă ca hemolizine „bifazice" (vezi pag. 21 mai sus). HPF apare cu precădere la copii, sub forma unor accese de hemoglobinurie declanşate după expunere la frig, şi care încetează spontan după încălzirea bolnavului. Descrisă la începutul secolului la subiecţi cu sifilis secundar sau terţiar, HPF se observă în prezent cu precădere după boli virale ca: mononucleoza infecţioasă, oreillon, rujeolă. Elementele esenţiale ale diagnosticului sunt prezentate în tabelul 8. Testul de screening constă din provocarea hemolizei sângelui bolnavului, (recoltat pe anticoagulant la 37°C) după o expunere iniţială de 1 1/2 ore la gheaţă urmată de reîncălzire la 37°C (19).

Tratamentul se adresează bolii de bază, plus încălzirea bolnavului. Transfuzii cu eritrocite spălate (pentru a evita introducerea de C) şi încălzite pot fi necesare după crize de deglobulizare.

Tabelul 8

HPF: date esenţiale pentru diagnostic

- Crize de hemoglobinurie după expunere la frig.
- Testul pentru anticorpi bifazici pozitiv

A.H. induse de medicamente prin mecanisme de tip haptenic reprezintă circa 18% din AH dobândite (64). Se descriu 2 modele de boală hemolitică, denumite convenţional de tip „penicilină" şi de tip „stibophen". Mecanismul hemolizei nu este de tip autoimun. Medicamente acţionează ca haptene (vezi pag. 3). În ambele situaţii eritrocitele învelite cu anticorpi anti-medicament suportă efectele mecanismelor imune de eliminare a imunogenelor. Hemoliza la medicamente indusă prin aceste mecanisme încetează spontan după oprirea tratamentului agresor. Particularităţile acestor hemolize sunt prezentate în tabelul 9.

Tabelul 9

A.H. la medicament prin mecanisme de tip haptenic

	Tip „penicilinic"	Tip „stibophen"
Mecanismul sensibilizării	Inițiat de atașarea medicamentului la eritrocit Anticorpii se atașează pe determinantul haptenic	Inițiat de legarea medicamentului la o proteină plasmatică. Conjugatul împreună cu anticorpul formează complexe imune care aderă pe eritrocit împreună cu complementul
Anticorpul Mecanismul principal al eliminării eritrocitelor sensibilizate	IgG IgM activatoare de complement	Hemoliză extravasculară mediată de aderența la macrofagele splenice Hemoliză mediată de complement (intravasculară dacă activarea C' a fost completă; extravasculară mediată de C_{3b}
Depistare	Anticorpii eluați de pe eritrocitele subiectului produc un test Coombs indirect pozitiv numai cu eritrocite preincubate cu medicamentul cauzal.	● Test Coombs direct de tip anticomplement ● Serul subiectului produce un test Coombs indirect pozitiv cu eritrocite normale preincubate cu medicamentul cauzal
Medicamente incriminate	Penicilină (i.v. megadoze) Cefalotină, Cefaloridină, Ampicilină, Meticilină, Carbenicilină	Stibophenul (Fuadin), Chinidină, Chinină, Fenacetină, Hidroclorotiazidă, Rifampicină, Izoniazidă, Sulfonamide, Clorpromazina, Tetraciclina. Streptomicina, Insulina, Melphalan, 5-Fluorouracil.

NEUTROPENII IMUNE

Neutropenia este definită prin reducerea numărului absolut de neutrofile circulante sub cifra de 1 500/mmc. Importanța clinică a neutropeniei este corelată cu susceptibilitatea crescută a bolnavilor neutropenici pentru infecții intercurente, pornite de regulă de la nivelul barierelor naturale care separă organismul de mediul extraorganic: piele, orofarinx, mucoasă bronșică și digestivă. Riscul infecțiilor este invers corelat cu severitatea neutropeniei: este maxim sub pragul de 500 granulocite neutrofile/mmc, prag sub care se definește agranulocitoza.

Neutropenia poate fi provocată de cauze non-imune şi imune. Neutropenia imunologică este provocată de anticorpi izoimuni, autoimuni sau de medicamente, cu specificităţi pentru antigenele leucocitare. Mecanismele identificate sunt, în mare parte, identice cu cele care operează în tipurile echivalente de anemii hemolitice imune.

Neutrofilele exprimă antigene *proprii* şi antigene *comune* cu alte linii celulare (dintre care cităm numai antigenele ABO, Ii şi HLA de clasă I). Se cunosc mai multe sisteme de antigene granulocitare proprii denumite „N" („neutrophil specificity"), „HGA" („human granulocyte antigens") şi „Gr", care au , fiecare, mai mulţi loci (de ex. NA, NB, ...NE pentru sistemul N), care, la rândul lor, pot prezenta mai multe alele (de ex. NA_1 şi NA_2) (41).

Anticorpii (IgG sau IgM) se pot comporta ca aglutinine opsonice (cu favorizarea aderenţei la fagocita), ca leucolizine (induc liza celulară mediată de complement) sau ca mediatori de citotoxicitate (prin reacţii de tip ADCC – „antibody dependent cellular cytotoxicity"). Unele dintre aceste modele de comportare au putut fi exploatate în dezvoltarea unor tehnici de depistare. Tehnicile cele mai utilizate se bazează pe aglutinare şi imunomarcare (cu fluorocromi, cu izotopi sau cu enzime), iar pentru decaparea antigenelor HLA (care pot produce o reacţie pozitivă nespecifică) se recurge la preincubarea celulelor testate cu clorochină (12).

NEUTROPENII ALLOIMUNE

Transfuzarea de granulocite seroincompatibile va antrena semne clinice de intoleranţă. Aglutininele receptorului – anti-leucocite – transfuzate stau la baza unor reacţii imediate manifestate prin frison – hipertermie, congestia feţei, tahicardie şi urmate (uneori) de leucopenie tranzitorie. Reacţii respiratorii violente pot surveni în acest context, în situaţii rare, cu dispnee acută şi edem pulmonar uneori fatal. Ele sunt provocate de agregarea granulocitelor în capilarele pulmonare (41). Anticorpii implicaţi în aceste situaţii ar avea specificitate anti NA_2 (72).

Neutropenia izoimună neonatală apare cu o incidenţă de 1/2000 naşteri. Mecanismul bolii este analog cu cel al BHNN provocate de anticorpi materni anti Rh. Se manifestă prin febră de tip septic, instalată din primele zile după naştere. Singura anomalie a sângelui este neutropenia care durează aproximativ 2–4 luni. Întrucât corticoterapia are valoare redusă, tratamentul de elecţie constă din administrare de antibiotice. Testele de aglutinare sau de imunofluorescenţă ajută la diferenţierea neutropeniei izoimune de starea septică neonatală cu neutropenia secundară.

NEUTROPENIA AUTOIMUNĂ (NAI)

Se descriu forme primare și secundare (tabelul 10) care sunt de 2,5 ori mai rare decât primele (14).

NAI primare (idiopatice)

Apar cu maximum de incidență la copiii sub vârstă de trei ani, cu o ușoară preferință (54%) pentru sexul feminin.

Tulburările clinice sunt dominate de infecții: *severe* (pneumonii, meningite, septicemii) sau, mai frecvent (80% din cazuri), *ușoare/medii* (otice, faringiene, traheobronșice, cutanate). Un număr de cazuri asociază și o splenomegalie discretă.

Tabelul 10

Boli asociate cu NAI secundară
AHAI
PTAI cronică
Sindrom Evans
LED
Sindrom Felty
Artrita reumatoidă
Limfoame non-Hodgkin
Boala Hodgkin
Mononucleoza infecțioasă
Infecția cu virus HIV
Ciroza biliară primitivă
Boala Castleman

Factorii care contribuie la instalarea NAI primare a copilului nu sunt cunoscuți. Asocierea frecventă a fenotipului HLA–DR_2 cu producerea autoanticorpilor anti NAI, a fost speculată în favoarea implicării unui factor ereditar. Conform altor sugestii, o stare de imaturitate a sistemului T supresor, inerentă la noul născut, ar putea favoriza apariția autoanticorpilor. Remisiunile spontane ar coincide cu dezvoltarea completă a funcției T-supresoare, ce survine în jurul vârstei de trei ani (14). Aceasta ar explica modelul general al evoluției: boala este autolimitată, cu o durată medie de evoluție de circa 20 de luni.

În marea majoritate a cazurilor autoanticorpii sunt IgG (subclasele IgG_1 și IgG_3). Severitatea manifestărilor clinice este proporțională cu reducerea numărului granulocitelor circulante, la care se adaugă uneori și deprimarea funcției acestora. Granulocitopenia ar fi efectul unor mecanisme *periferice*

(sechestrare și fagocitoză în organe cu sistem macrofagic bine reprezentat – splină, ficat, pulmon) și combinate uneori și cu mecanisme *centrale* (inhibiția celulelor stem granulomonocitare –CFU. GM – ilustrată prin hipoplazia compartimentului granulocitar din măduva osoasă (14, 68). În majoritatea cazurilor la care s-a putut determina specificitatea autoanticorpilor, aceasta a fost îndreptată împotriva antigenelor NA 1 care sunt localizate pe receptorii Fc γ III ai neutrofilelor. În alte cazuri țintele autoanticorpilor au fost complexele moleculare CD 11b/CD 18 (Mac 1, o specie de glicoproteine ale membranei care fac parte din familia proteinelor de adeziune (integrine) (vezi mai jos pag. 47). Aceste aspecte sugerează conexiunile care se pot ivi între atașarea autoanticorpilor antigranulocitari pe diverse substrate și influențarea funcției granulocitelor la diverse nivele. Astfel, mai multe cazuri de NAI primare s-au asociat cu o tulburare a adeziunii, cu scăderea capacității de atașare a bacteriilor sau cu scăderea producției de superoxizi (27, 40). S-au citat însă și cazuri în care specii de autoanticorpi antigranulocitari pot provoca numai deprimarea unor funcții ale acestora fără a induce și neutropenie (34).

Pornind de la aceste baze, investigarea subiecților cu NAI urmărește două aspecte: detectarea anticorpilor legați pe suprafața membranei (teste de imunofluorescență sau de radiomarcare) și evidențierea efectelor anticorpilor (leucoaglutinare, opsonizare, citotoxicitate, activarea complementului).

Tratamentul urmărește în primul rând: combaterea infecțiilor actuale și profilaxia infecțiilor recurente. La copiii mici, cu boală autolimitată, alte intervenții terapeutice pot să nu fie necesare. În formele severe se pot încerca: corticoterapie, doze mari de gamaglobuline administrate intravenos, factori de creștere, hematopoietici, imunosupresoare (Methotrexate), imunomodulatoare (Cyclosporina A), plasmafereze. Rezultatele variază mult între cazuri și autori.

O formă cronică de *neutropenie idiopatică a adultului* a fost descrisă ca o entitate definită în cadrul neutropeniilor care apar la această grupă de vârstă. S-au înregistrat unele cazuri asimptomatice și altele care au prezentat infecții recurente ușoare (predominant cutanate și respiratorii). Bolnavii mai vârstnici ar constitui un subset aparte: asociază adesea anemie și/sau trombocitopenie, pot prezenta o ușoară mărire a splinei (34% cazuri) iar în serurile lor se decelerează relativ frecvent autoanticorpi cu potențial de fixare a complementului pe granulocite. Tabloul măduvei osoase este tipic: ușoară hipercelularitate, combinată cu un arest al maturației granulocitelor în stadiile de mielocit și metamielocit (39).

NAI secundare se întâlnesc mai frecvent la vârstnici în contextul unor boli autoimune, al unor limfoproliferări maligne cronice sau al unor forme de boală reumatică (Tabelul 10). Tratamentul formelor secundare se adresează în special bolii de bază și se aseamănă în principiu cu cel al NAI primare. Specificitatea autoanticorpilor din NAI secundare nu este bine cunoscută. În

sindromul Felty s-au descris însă sporadic anticorpi antiactină, alții care alterează ciclul respirator al granulocitelor (60), ca și asocierea unui mecanism citotoxic dependent de anticorpi și mediat de limfocite (39).

Proliferarea limfocitelor mari granulare („limfocitoza Tγ") se poate însoți de o varietate de tulburări autoimune (artrită reumatoidă, eritroblastopenie, trombocitopenie, neutropenie). Limfocitele mari granulare (LGL=„large granular lymphocytes"), sau NK, exprimă markeri de celule T (CD3, CD8), markeri de macrofage (OKM1) și receptori Fcγ prin intermediul cărora captează celule-țintă învelite în anticorpi și desfășoară în vivo activități citotoxice de tip ADCC. Circa 80% din proliferările T se însoțesc de neutropenie care adesea este ciclică. Serurile acestor neutropenici prezintă frecvent anticorpi antigranulocitari de tip IgG fixatori de complement atașați pe suprafața granulocitelor (57).

NEUTROPENIA INDUSĂ DE MEDICAMENTE

Este constatată cu frecvență crescută datorită înmulțirii continue a specialităților farmacologice (59). Mecanismele de producere nu sunt bine înțelese, dar anticorpii respectivi ar putea acționa prin opsonizare inducând sechestrarea granulocitelor mature în splină și fagocitarea precursorilor granulocitari de către macrofagele din măduva osoasă. Anumite medicamente (antitiroidienele, aminopirina și derivații săi, antiinflamatoarele non-steroidice) formează complexe cu anticorpii care sunt ulterior adsorbite pe neutrofile și produc eliminarea acestora, în timp ce altele (sulfapiridina, hidralazina, acidul paraaminosalicilic, chinidina, aprinidina) induc anticorpi citotoxici de clasă IgM (65). Oprirea administrării atrage după sine restaurarea rapidă a numărului granulocitelor, cu apariția de forme tinere pe frotiul de sânge. Adesea repararea neutropeniei este precedată de o ușoară monocitoză.

TROMBOCITOPENII IMUNE

Un număr absolut de trombocite circulante mai mic de 150 000/mmc definește trombocitopenia. Expresia clinică cea mai obișnuită a unei trombocitopenii este purpura cutanată, cu elemente individuale (peteșii) mici-punctiforme. Purpura cutanată se însoțește, de regulă, cu echimoze și cu hemoragii din mucoase (epistaxis, gingivoragii, menometroragie). Mai rar, se

pot asocia hemoragii grave, cu risc vital, prin intensitate (de ex. hemoragii digestive), sau prin localizare (de ex. hemoragii cerebrale). Pragul sub care riscul apariţiei acestor hemoragii grave devine maxim este de 20 000 trombocite/mmc.

Clasic, trombocitopeniile imune sunt încadrate printre citopeniile cu mecanism periferic. În ultimii ani, s-au adus dovezi conform cărora, în diverse circumstanţe etiopatogenice anticorpii în cauză exercită acţiuni mult mai complexe, atât asupra trombocitelor din circulaţie cât şi asupra precursorilor medulari ai acestora, cu răsunet numeric (trombocitopenie) şi/sau funcţional (trombopatie imună).

După mecanismul care stimulează producţia de anticorpi, trombocitopeniile imune sunt efectul acţiunii izoanticorpilor, al autoanticorpilor sau al medicamentelor (tabelul 11). Anticorpii sunt IgG şi/sau, mai rar, IgM, care pot fixa sau nu complementul, iar mecanismele prin care este indusă trombocitopenia sunt în general asemănătoare cu cele care operează în tipurile de citopenie discutate în secţiunile precedente.

Tabelul 11

Trombocitopenii prin mecanisme imune

● Prin alloimunizare
- Purpura posttransfuzională
- Ineficienţa transfuziei cu trombocite
- Purpura neonatală alloimună

● Prin autoimunizare
- Purpura trombocitopenică autoimună (PTAI)
- Pseudotrombocitopenia

● Prin mecanisme imune induse de medicamente

Plachetele exprimă trei tipuri de sisteme antigenice: *antigene ubicuitare* (HLA de clasa I), antigene *comune* cu cele ale altor linii celulare (ABO, Lewis, J, P, M, N,) şi antigene proprii, împărţite în şapte sisteme (PL^{A}=Zw, PL^{E}, Ko, Bak=Lek, Yuk=Pen, Br, PL^{T}), dintre care, primele 6 citate sunt bialelice (69). Unele dintre aceste antigene (PL^{Al}, Koa) sunt foarte imunogene şi anticorpii produşi de ele pot sta la baza unor accidente de alloimunizare. Din punct de vedere chimic, antigenele plachetare sunt secvenţe scurte incastrate în moleculele unor glicoproteine (GP) ale membranei (tabelul 12). Aceste GP funcţionează ca receptori şi fac parte din superfamilia proteinelor de adeziune denumite colectiv „integrine". Integrinele sunt alcătuite din două lanţuri peptidice diferite, denumite convenţional α şi β. Se descriu mai multe familii de integrine caracterizate fiecare printr-un alt tip de lanţ β: citoadezine, VLA („very late antigens") şi LFA („leukocyte function antigens"). Diferiţi membri

care alcătuiesc o familie dată sunt definiți după lanțurile α care diferă de la o proteină la alta dar în combinație cu lanțul β care este comun pentru întreaga clasă. GP IIb/IIIa este o citoadezină plachetară care funcționează ca receptor pentru mai mulți liganzi (fibrinogen, fibronectină, vitronectină și factorul von Willebrand) (FvW). Ea conține antigenele PL^A (Zw) și Yuk pe subunitatea IIIa și antigenul Bak pe subunitatea IIb. Complexul plachetar Ia IIa care este reprezentantul VLA_2 al clasei de integrine VLA, funcționează ca receptor pentru colagen și exprimă antigenul Br^a.

Tabelul 12

Localizarea antigenelor plachetare pe GP de suprafață
(după Van dem Borne, modificat)

IIIa	PL^A, PL^{A2}, Yuk^b
IIb	Bak^a
Ia	Br^a
Ib	PL^{E1}
V	PL^T

Complexul molecular IIb IIIa (și/sau antigenele exprimate pe acesta) reprezintă ținta de predicție a anticorpilor antiplachetari. Aceștia sunt IgG în majoritatea cazurilor și mijlocesc eliminarea trombocitelor sensibilizate prin mecanisme de aderare – fagocitoză la nivelul macrofagelor splenice (și/sau hepatice în formele severe). Participarea eventuală a complementului în aceste procese este posibilă, întrucât s-au descris situații în care plachetele prezintă cantități mari de C_3 pe suprafață (69). Întrucât plachetele exprimă și receptori Fc de tip II, de mică afinitate, asemănători celor ai monocitelor (54), ele sunt capabile să atașeze complexe imune formate în plasmă cu IgG iar domeniile expuse Fc, ale IgG, interacționează cu receptorii Fcγ macrofagici antrenând în procesul de clearance și trombocitele purtătoare.

Evidențierea fixării anticorpilor pe plachete poate fi făcută prin testul standard de imunofluorescență (69), prin metoda Western blot (52) sau cu anticorpi monoclonali specifici pentru diferite complexe moleculare ale membranei plachetare (HLA – clasa I, IbIX, IIbIIIa) (33).

TROMBOCITOPENII PRODUSE PRIN ALLOIMUNIZARE

Alloanticorpii au specificitate pentru antigenele exprimate de GP IIbIIIA. Alloimunizarea cea mai frecventă este produsă de antigenul PL^{A1} (Zw^a). Acesta este un antigen public prezent la 98% din persoane. Plachetele

$PL^{A\ 1}$ pozitive provoacă la persoanele $PL^{A\ 1}$ negative formarea anticorpilor anti-PL^{A1}. Peste 90% din subiecţii care se imunizează exprimă fenotipul HLA. În cazuri foarte rare alloanticorpii pot fi anti-PL^{A2}, anti-Bak sau anti-Yuk.

Purpura posttransfuzională este un accident extrem de rar care poate fi observat în două circumstanţe: la persoane de ambele sexe, presensibilizate după o transfuzie incompatibilă sau la multipare alloimunizate printr-o sarcină incompatibilă (în aceste din urmă situaţii accidentul purpuric survine după prima transfuzie incompatibilă). Manifestările clinice survin în doi timpi: febra, în cursul transfuziei inductoare şi manifestările hemoragice care se instalează cu 5–10 zile mai târziu. Diagnosticul este sugerat de asocierea: trombocitopenie posttransfuzională, testele de coagulare independente de trombocite normale, măduva osoasă normală. Anticorpii pot fi detectaţi pe suprafaţa plachetelor numai în faza acută a bolii. Remisiunea spontană survine după aproximativ o săptămână. Tratamentul este necesar numai dacă manifestările hemoragice periclitează viaţa bolnavului şi constă în primul rând din administrarea i.v. de gamaglobuline în doze mari. Plasmaferezele de asemenea pot fi utile. Eficienţa corticoterapiei nu a fost dovedită.

Ineficienţa transfuziei cu trombocite se poate instala la 50–70% dintre politransfuzaţi, ca efect al formării mai multor tipuri de anticorpi: allo- sau autoanticorpi antiplachetari, anticorpi îndreptaţi împotriva altor constituenţi ai sângelui, anticorpi induşi de medicamente. Specificitatea alloanticorpilor implicaţi în instalarea rezistenţei la transfuzia cu trombocite poate fi îndreptată contra mai multor tipuri de antigene plachetare: anti-HLA clasa I, anti-ABO, anti-PL^{A}, anti-Ko.

Prevenirea acestor incidente este obligatorie la toţi bolnavii la care sunt planificate transfuzii repetate şi vizează în primul rând reducerea riscului de alloimunizare anti-HLA prin administrare de produse deleucocitizate şi antigenocompatibile. După instalarea alloimunizării vor putea fi administrate numai eşantioane de trombocite compatibile, în combinaţie cu injecţii i.v. de gamaglobuline în doze mari.

Purpura neonatală alloimună survine la 1/90.000 naşteri. În situaţia cea mai des întâlnită, mamele $PL^{A\ 1}$ negative sunt sensibilizate de trombocitele fetale $PL^{A\ 1}$ pozitive, iar anticorpii IgG anti-$PL^{A\ 1}$ produşi de mamă străbat placenta şi determină trombocitopenia copilului. Aceasta se poate instala încă din săptămâna a 20-a de sarcină (30). În cazuri foarte rare feţii pot suferi hemoragii intracraniene în urma căreia se produc porencefalie şi hidrocefalie. La naştere, copiii prezintă de regulă trombocitopenie accentuată. Valorile ≤ 20.000/mmc predispun la accidente severe posttravaliu: hematoame cefalice sau hemoragii intracraniene (35–40% din cazuri) care se pot solda cu deces (10% cazuri) sau cu sechele neurologice şi/sau psihice (25% cazuri). Manifestările hemoragice curente (peteşii, echimoze, hematoame) prezente

la naştere se remit spontan în câteva săptămâni. Diagnosticul se sprijină pe trei grupe de scheme:

1) trombocitopenie imună la noul născut+număr normal de trombocite la mamă (elimină posibilitatea unei trombocitopenii la copilul născut din mamă cu trombocitopenie autoimună);

2) afectarea trombocitelor fătului de către serul mamei;

3) detectarea anticorpilor în sângele matern.

Procedurile terapeutice diferă în funcţie de momentul diagnosticului:

a) copilul se naşte cu manifestări hemoragice – până la stabilirea diagnosticului sunt recomandate corticoterapie± exsanguinotransfuzia; după precizarea diagnosticului sunt indicate injecţiile i.v. cu doze mari de gamaglobuline şi/sau transfuzie cu trombocite spălate compatibile, rezultate de la mamă sau de la un donor selectat;

b) alloimunizarea a fost depistată prenatal; se recomandă monitorizarea fetală şi transfuzia intrauterină cu plachete compatibile în cazurile cu risc mare pentru făt.

Purpura trombocitopenică autoimună (PTAI)

PTAI este o condiţie clinico-patogenică complexă care include trei entităţi: 1) purpura trombocitopenică imunologică acută (postinfecţioasă)– formă predominantă la copil; 2) purpura trombocitopenică idiopatică cronică – boală autoimună primară predominantă la adult; 3) purpura trombocitopenică autoimună secundară unor afecţiuni imunoproliferative diverse.

Elementul comun al entităţilor amintite este trombocitopenia, corelată cu prezenţa autoanticorpilor antiplachetari (demonstrabilă pe suprafaţa trombocitelor şi/sau în ser). În diversele situaţii clinice patogenice enunţate, anticorpii pot acţiona la două nivele: *periferic* – provocând eliminarea rapidă din circulaţie a trombocitelor sensibilizate şi *central* – cu diminuarea producţiei trombocitelor în măduva osoasă.

Purpura trombocitopenică imunologică acută (postinfecţioasă). Prezintă două aspecte caracteristice: 1) instalare bruscă a sindromului purpuric la 7–21 zile după debutul unei infecţii şi 2) remisiune spontană în decurs de 15–60 de zile. Cele mai frecvente infecţii provocatoare sunt virozele respiratorii „banale", varicela şi rubeola (4). Manifestările hemoragice şi trombocitopenia se instalează după îndepărtarea virusului din circulaţie, ceea ce ar exclude o acţiune directă a virusului asupra trombocitelor şi ar susţine ipoteza răsfrângerii asupra trombocitelor a consecinţelor ripostei imune antivirale; sinteză eronată de anticorpi antiplachetari, sinteză de anticorpi antivirali care reacţionează încrucişat şi cu antigenele plachetare sau formarea de complexe imune cu antigenele virale care se ataşează pe receptorii Fcγ ai plachetelor şi promovează îndepărtarea acestora din circulaţie.

PTI acută poate fi observată la orice vârstă dar, ca regulă generală, este o boală a copilăriei care apare mai frecvent în sezonul rece când incidența infecțiilor cauzale este ridicată. Manifestările obișnuite sunt purpura, prezența de bule hemoragice pe mucoasa bucală și epistaxisul. Hemoragia intracraniană poate fi observată la 1% din cazuri și poate fi anunțată de sângerări digestive sau urinare. Diagnosticul serologic este adesea îngreunat de imposibilitatea evidențierii anticorpilor serici. În schimb, studiul plachetelor demonstrează adesea IgG legate pe suprafață. Cu excepția complicațiilor citate, prognosticul este bun și 80% din cazuri se remit. Cele mai rapide răspunsuri se înregistrează după corticoterapie sau după administrarea i.v. de gamaglobuline. Transfuzia cu trombocite este necesară numai în cazurile complicate cu hemoragii cu risc vital. În majoritatea cazurilor remisiunea este permanentă. Infecții virale ulterioare, vaccinări sau alte cauze neprecizate pot induce uneori recăderi. În fine, o minoritate de cazuri, fără răspuns după 2–6 luni de la debut, pot fi considerate PTI cronice (vezi mai jos).

Purpura trombocitopenică idiopatică (PTI) cronică

Se deosebește de forma precedentă prin următoarele caracteristici: 1) apare cu maximum de incidență la adultul tânăr (20–40 ani); 2) predomină la femei (F/B=3/1); 3) debutul este insidios, fără legătură aparentă cu infecții sau alte boli cunoscute de a se însoți de trombocitopenii; 4) evoluția este cronică, autoîntreținută, fără tendință la remisiuni spontane.

PTI cronică se poate instala ca atare de la început, sau poate fi urmarea unei forme acute, neremise după mai mult de șase luni de evoluție. Boala reprezintă echivalentul pentru trombocite a ceea ce este AHAI pentru eritrocite, întrucât este provocată de autoanticorpi circulanți și nu de complexe imune sau de mecanisme de tip celular (69,70). Studiile de imunofluorescență au demonstrat în peste 90% din cazuri, fixarea pe plachete a autoanticorpilor (IgG în 92% din cazuri, cel mai frecvent IgG_1 și IgG_3). În schimb, evidențierea de molecule de complement (C_3, C_4) pe trombocite este o excepție. Aceste constatări sprijină ideea că mecanismul principal de sustragere din circulație a trombocitelor sensibilizate este imunoaderența la macrofage, mediată de receptorii $Fc\gamma$ ai acestora. În majoritatea cazurilor, examenele histologice evidențiază fagocitarea trombocitelor de către macrofagele splenice (73), însă la pacienții cu boală severă, asocierea unui fenomen de clearance hepatic este posibilă (4).

În fine, liza trombocitelor mediată de complement, fără participarea macrofagelor, ar putea fi și ea o cauză de trombocitopenie (37), în acea minoritate de cazuri la care s-a demonstrat prezența C_{3c} pe membranele plachetare. Ținta de predilecție a autoanticorpilor antiplachetari este complexul GP IIb IIIa (62% cazuri). În alte situații, mult mai rare, specificitățile decelate au fost anti GP Ib, anti GP V, antifosfolipide, anti receptori pentru colagen (8,70).

Anticorpii se pot fixa pe epitopi diferiţi ai acestor molecule funcţionale şi în funcţie de aceasta pot determina, pe lângă trombocitopenie, încă trei tipuri de efecte care au fost decelate în diverse cazuri in vivo sau/şi in vitro: 1) ataşare pe megacariocite, cu inhibarea trombocitoformării sau alteori chiar cu distrugerea megacariocitelor (situaţie rară în care la inspecţia frotiurilor apare amegacariocitoză în locul tabloului obişnuit de hiperplazie megacariocitară), (7,24); 2) alterarea unor funcţii ale trombocitelor cu inducerea unui profil biologic de tipul tromboasteniei sau al sindromului Bernard–Soulier (explică prezenţa unui sindrom hemoragic activ la pacienţi la care numărul trombocitelor circulante este mult deasupra pragului de siguranţă, de $50x10^9$(1), (20); este de menţionat în acest context şi descrierea unei trombocitopatii autoimune, fără trombocitopenie (46, 70); 3) un efect posibil asupra endoteliilor vasculare (care exprimă şi ele citoadezine compuse cu lanţuri β de tip GP IIIa) ilustrat prin eliberarea unor molecule de factor von Willebrand cu migrare rapidă (22).

Semnele clinice nu sunt specifice. Debutul este de regulă insidios. Pacientul se prezintă, în general, cu un lung istoric de manifestări hemoragice uşoare; purpură, echimoze, gingivoragii, menoragii. Prezenţa bulelor hemoragice pe mucoasa buco-linguală sau a hemoragiilor retiniene sugerează un risc major pentru instalarea hemoragiei intracraniene. Depistarea unei splenomegalii, la debutul aparent al bolii sugerează o PTI secundară unui proces limfoproliferativ sau o altă boală. (71).

Datele hematologice arată triada trombocitopenie, prezenţă de macrotrombocite pe frotiul de sânge şi hiperplazie megacariocitară în M.O. Certificarea diagnosticului o aduce evidenţierea anticorpilor fixaţi pe trombocite, prin teste de imunofluorescenţă. Metoda „capture" elaborată recent demonstrează indirect prezenţa anticorpilor antiplachetari în serul bolnavului. Godeurile unor microplăci sunt tapisate uniform cu membrane plachetare. Serul de cercetat se pipetează în godeu şi după un timp de incubare se adaugă un antiser care conţine anticorpi anti IgG umană care au fost cuplaţi cu eritrocite (ca markeri).

În PTI anticorpii antiplachetari se fixează pe antigenele plachetare, iar acest proces este demonstrat cu ajutorul anti IgG: reacţia pozitivă provoacă o colorare uniformă în roşu a godeului. În schimb, în absenţa anticorpilor serici antiplachetari eritrocitele se adună la fundul godeului sub forma unui buton de culoare roşie. La anumiţi pacienţi, numărarea trombocitelor din eşantioane de sânge recoltate pe EDTA, arată, în circa 25% din cazuri, cifre mai mici decât cele reale. Această „pseudotrombocitopenie" este un efect conjunctural: EDTA dezgoleşte criptoantigene din structura dipeptidului IIb, IIIa, iar serul bolnavului conţine tromboaglutinine specifice acestor antigene. Anticorpii produc in vitro aglutinarea trombocitelor (ceea ce falsifică numărarea), dar nu au nici un efect in vivo. Efectul descris nu apare dacă sângele este recoltat pe citrat de sodiu (70, 71).

Obiectivul imediat al tratamentului este ridicarea şi menţinerea cifrei trombocitelor peste pragul de risc, pentru evitarea hemoragiilor care ameninţă viaţa. Aşa cum am subliniat în tabelul 13, metodele terapeutice actuale acţionează prin influenţarea mecanismelor imuno-patogenice, la diverse nivele ale acestora. În plus, corticosteroizii şi alcaloizii de Vinca sunt creditaţi şi cu o acţiune de creştere a trombocitopoiezei. Răspunsurile cele mai rapide le produce terapia care vizează inhibiţia sau blocarea receptorilor macrofagelor, aşa cum sugerează experimentul in vivo cu anticorpi monoclonali anti RFcγ (17).

De aceea, ori de câte ori se impune o creştere rapidă a numărului trombocitelor peste pragul de risc este recomandată asocierea corticoterapiei cu administrarea i.v. de gamaglobuline. În marea majoritate a situaţiilor, şi mai ales în cazurile fără manifestări hemoragice cu risc vital, corticoterapia este metoda curentă pentru începerea tratamentului. Doza de atac pentru Prednison este de 1–1,5mg/kg/zi. Numărul trombocitelor creşte în 1–2 săptămâni. Reducerea dozei se face treptat.

Se obţin 80% răspunsuri pozitive, dintre care 15–30% remisiuni complicate. Contraindicaţiile metodei, lipsa de răspuns sau răspunsul parţial (controlul sindromului hemoragic numai cu preţul menţinerii unor doze prea mari de Prednison) sau reşutele frecvente, sunt situaţiile în care este recomandată splenectomia. Aceasta induce remisiuni de lungă durată în ≥ 60% din cazuri. O pregătire preoperatorie atentă este adesea necesară (imunoglobuline i.v., alcaloizi de Vinca sau Danazol) pentru creşterea rapidă a trombocitelor la nivelele de siguranţă.

Un răspuns insuficient după splenectomie este urmat de reintroducerea corticosteroizilor în doze mici şi/sau a altor terapii imunomodulatoare. Imunosupresoarele (Ciclofosfamidă, Imuran) sunt indicate după eşecul terapiilor expuse (recolta răspunsurilor pozitive se limitează la circa 25% din cazuri).

PTI cr. care este diagnosticată la femeile însărcinate reprezintă o situaţie specială din trei puncte de vedere: consecinţele asupra gravidei, consecinţele asupra fătului (AAc sunt IgG care străbat placenta) şi impactul terapiilor asupra ambilor. Rezultatele numărării trombocitelor fătului (31) pot orienta opţiunile terapeutice care, în principiu, se bazează pe administrarea de Prednison şi Gamaglobuline i.v. la mamă, dar în cazurile cu risc vital pentru făt sau pentru protejarea acestuia împotriva hemoragiilor intracraniene posttravaliu s-au utilizat uneori transfuziile intrauterine cu plachete compatibile (13). Întrucât în aceste situaţii trombocitopenia noului născut este un fenomen pasiv şi autolimitat (durează până la catabolizarea completă a IgG provenite de la mamă) tratamentul postnatal constă în administrarea i.v. de imunoglobuline ±Prednison (15).

Purpura trombocitopenică autoimună secundară

Diagnosticul PTI cronice este un diagnostic de excludere al trombocitopeniilor autoimune secundare altor boli (vezi tabelul 14). Trei situaţii trebuie avute în vedere în mod obligatoriu: lupusul eritematos diseminat (LED), bolile limfoproliferative cronice (BLPC) şi infecţia cu HIV. PTI poate reprezenta prima manifestare a LED şi a BLPC (3–13% din cazuri) sau poate surveni oricând pe parcursul evoluţiei acestor boli. Unul din semnele care sugerează o astfel de asociere este prezenţa splenomegaliei. O parte din bolnavii cu PTI cr. pot dezvolta în evoluţie autoanticorpi cu diverse specificităţi, de exemplu autoanticorpi antieritrocitari (ca în sindromul Evans) sau anticorpi antinucleari.

Prezenţa anticorpilor antinucleari într-o PTI cronică nu înseamnă în mod obligatoriu prezenţa LED sau faptul că bolnavul respectiv nu face LED. S-au descris cazuri, rare, în care coexistau mai multe tipuri de autoanticorpi (antinucleari, antifosfolipide, antieritrocitari, factor reumatoid), fără semnătură clinică sau doar cu asocierea unor artralgii discrete, şi care nu au acumulat în toată perioada de urmărire (3–38 de ani) criterii adiţionale pentru conturarea diagnosticului de LED. Se pare însă că, anticorpii anti ADN nativ (dublu catenar) au valoare predictivă pentru dezvoltarea ulterioară a LED, mai ales dacă există în titru ridicat (44).

Infecţia cu HIV se poate asocia cu trombocitopenie în toate fazele evoluţiei sale (seropozitivitatea asimptomatică, ARC şi SIDA) indiferent de sexul şi vârsta pacientului şi de calea prin care s-a produs infestarea. Trombocitopenia ar fi mediată de ataşarea pe trombocite a unor complexe imune circulante şi/sau a unor anticorpi antiplachetari IgG. Complexele imune sunt generate de anticorpii anti HIV care se combină cu determinanţii idiotipici din Fab-urile unor molecule normale de IgG. Anticorpii antiplachetari au specifităţi diverse: dipeptidul IIb IIIa sau o proteină de 25 kDA (cu semnificaţie încă neprecizată.) Aspectele semnalate nu sunt uniform observate la diversele loturi studiate. Într-un număr de cazuri anticorpii eluaţi de pe trombocite au reacţionat şi cu GP IIb IIIa şi cu proteina GP 120 a anvelopei virale sugerând existenţa unor analogii între aceste două structuri şi posibilitatea unor reacţii încrucişate (32).

Trombocitopeniile imune secundare se tratează în principiu la fel ca PTI cr. Răspunsuri bune sunt obţinute după corticosteroizi şi splenectomie. Afirmaţia mai veche, a activării în urma splenectomiei a unui lupus latent nu a fost confirmată ulterior. În trombocitopenia post HIV se evită curele lungi de Prednison preferându-se în formele cu răspunsuri nesatisfăcătoare splenectomia precoce, dozele mari de imunoglobuline i.v., Vincristina, azidotimidina sau α interferonul (4).

Trombocitopenii imune induse de medicamente

Reprezintă *evenimente rare* ce pot complica administrarea unor medicamente (vezi tabelul 15). Debutul acestora este de cele mai multe ori brusc: sindrom purpuric prin trombocitopenie precedat adesea (ore) de frisoane, febră, congestia feței, artralgii. Unele cazuri se pot complica cu hemoragii cu risc vital (digestive, urinare, pulmonare, cerebrale). Alteori medicamentul în cauză poate genera și hemoliză imună sau/și leucopenie. Oprirea administrării este urmată de remisiune. Instalarea remisiunii poate fi rapidă (1–3 zile) sau lentă, în funcție de ritmul metabolizării și/sau al excreției medicamentului.

Tabelul 13

Tratamentul PTI cronice: mecanisme (A) și metode (B) (4,8,22).

A. *Modularea mecanismelor imune*

● Supresia clearance-ului trombocitelor învelite în autoanticorpi (AAC)

– acțiuni asupra macrofagelor
1. inhibarea R Fc
2. competiția cu AAC pentru R Fc
3. diversiunea prin hemoliză
4. eliminarea de macrofage
– acțiuni la nivelul trombocitelor circulante
5. reducerea nivelelor de AAC atașați pe trombocite
6. competiția cu AAC pentru antigenele trombocitare

● Reducerea titrului AAC serici prin:

7. scăderea sintezei
8. creșterea catabolismului
9. supreșie prin idiotipuri

● Efecte asupra limfocitelor

10. modularea subseturilor de limfocite T
11. eliminarea de limfocite producătoare de AAC

B. *Agenți terapeutici și efecte imunomodulatorii*

Prednison: 1, 5, 7, 8, 11.
Splenectomie: 4, 11.
Alcaloizi de Vinca: 1, 4, 7.

Vincristină i.v.
Vinblastină, perfuzii lungi
Trombocite autologe îmbibate in vitro cu Vinblastină

Ciclofosfamidă, Imuran: 7, 11.
Imunoglobuline i.v.: 1, 2, 5, 6, 8, 9, 10.
Imunoglobulină anti D (numai la subiecți Rh+): 2, 3.
Anticorpi monoclonali anti RFc: 1
Danazol: 1, 10.
Plasmafereza cu schimb de plasmă.
Perfuzia cu concentrate plachetare

Tabelul 14

Cauze de PTI secundare

Lupus eritematos diseminat sau alte conectivite
Bolile limfoproliferative cronice: Leucemia limfatică cronică, Boala Waldenström, limfoamele maligne, mielomul multiplu
Tumori solide
Boli virale: infecția cu HIV și HTLV-I, mononucleoza infecțioasă, parvoviroza, rujeola, hepatita A.

Tabelul 15

Medicamente care pot provoca trombocitopenie mediată de anticorpi

Analgezice:	acetaminofen, aspirină
Antibiotice:	sulfonamide, rifampicină
Alcaloizi de Chinchona:	chinidină, chinină
Altele:	heparină, săruri de aur clorotiazidă, furosemid, sedormid, valproat de sodiu.

Majoritatea cazurilor (>60%)sunt secundare tratamentelor cu chinidină, chinină, heparină, sulfonamide, trimetoprim și săruri de aur. Mecanismele trombocitopeniei imune în aceste cazuri sunt multiple și imprecis cunoscute. Se admite, în general, implicarea acelorași tipuri de mecanisme care operează și în cazul hemolizei autoimune (formarea complexelor imune, adsorbția medicamentului pe trombocite sau o reacție autoimună reală). În câteva situații însă, par să opereze mecanisme particulare. Chinina și chinidina ar acționa prin intermediul unor metaboliți. Atașarea acestora pe moleculele țintă membranare provoacă expunerea unor „neoantigene" care ar fi triggerul producerii anticorpilor. Aceștia sunt IgG specifici pentru complexul GP Ib.V.IX (sau mai rar pentru GP IIb IIIa). O predispoziție pentru trombocitopenie autoimună indusă de săruri de aur a fost notată la purtătorii antigenului HLA–DR 3. Alte medicamente care pot induce autoanticorpi antitrombocitari sunt alfa metil dopa, levo dopa, chinidina și valproatul de sodiu. Heparinoterapia poate genera trombocitopenie prin două mecanisme: a) nonimunologic (cu scăderea ușoară și reversibilă a numărului trombocitelor în primele cinci zile ale tratamentului) și b) imunologic (cu trombocitopenie severă care apare după 7–14 zile de tratament). Formarea anticorpilor ar putea fi indusă de „neoantigene" (vezi mai sus). Pe lângă

Trombocitopenii imune induse de medicamente

Reprezintă *evenimente rare* ce pot complica administrarea unor medicamente (vezi tabelul 15). Debutul acestora este de cele mai multe ori brusc: sindrom purpuric prin trombocitopenie precedat adesea (ore) de frisoane, febră, congestia feţei, artralgii. Unele cazuri se pot complica cu hemoragii cu risc vital (digestive, urinare, pulmonare, cerebrale). Alteori medicamentul în cauză poate genera şi hemoliză imună sau/şi leucopenie. Oprirea administrării este urmată de remisiune. Instalarea remisiunii poate fi rapidă (1–3 zile) sau lentă, în funcţie de ritmul metabolizării şi/sau al excreţiei medicamentului.

Tabelul 13

Tratamentul PTI cronice: mecanisme (A) şi metode (B) (4,8,22).

A. *Modularea mecanismelor imune*

● Supresia clearance-ului trombocitelor învelite în autoanticorpi (AAC)

– acţiuni asupra macrofagelor
1. inhibarea R Fc
2. competiţia cu AAC pentru R Fc
3. diversiunea prin hemoliză
4. eliminarea de macrofage
– acţiuni la nivelul trombocitelor circulante
5. reducerea nivelelor de AAC ataşaţi pe trombocite
6. competiţia cu AAC pentru antigenele trombocitare

● Reducerea titrului AAC serici prin:

7. scăderea sintezei
8. creşterea catabolismului
9. supreşie prin idiotipuri

● Efecte asupra limfocitelor

10. modularea subseturilor de limfocite T
11. eliminarea de limfocite producătoare de AAC

B. *Agenţi terapeutici şi efecte imunomodulatorii*

Prednison: 1, 5, 7, 8, 11.
Splenectomie: 4, 11.
Alcaloizi de Vinca: 1, 4, 7.

Vincristină i.v.
Vinblastină, perfuzii lungi
Trombocite autologe îmbibate in vitro cu Vinblastină

Ciclofosfamidă, Imuran: 7, 11.
Imunoglobuline i.v.: 1, 2, 5, 6, 8, 9, 10.
Imunoglobulină anti D (numai la subiecţi Rh+): 2, 3.
Anticorpi monoclonali anti RFc: 1
Danazol: 1, 10.
Plasmafereza cu schimb de plasmă.
Perfuzia cu concentrate plachetare

Tabelul 14

Cauze de PTI secundare

Lupus eritematos diseminat sau alte conectivite
Bolile limfoproliferative cronice:
 Leucemia limfatică cronică,
 Boala Waldenström, limfoamele
 maligne, mielomul multiplu

Tumori solide

Boli virale: infecția cu HIV și HTLV-I,
 mononucleoza infecțioasă, parvoviroza,
 rujeola, hepatita A.

Tabelul 15

Medicamente care pot provoca trombocitopenie mediată de anticorpi

Analgezice:	acetaminofen, aspirină
Antibiotice:	sulfonamide, rifampicină
Alcaloizi de Chinchona:	chinidină, chinină
Altele:	heparină, săruri de aur clorotiazidă, furosemid, sedormid, valproat de sodiu.

Majoritatea cazurilor (>60%) sunt secundare tratamentelor cu chinidină, chinină, heparină, sulfonamide, trimetoprim și săruri de aur. Mecanismele trombocitopeniei imune în aceste cazuri sunt multiple și imprecis cunoscute. Se admite, în general, implicarea acelorași tipuri de mecanisme care operează și în cazul hemolizei autoimune (formarea complexelor imune, adsorbția medicamentului pe trombocite sau o reacție autoimună reală). În câteva situații însă, par să opereze mecanisme particulare. Chinina și chinidina ar acționa prin intermediul unor metaboliți. Atașarea acestora pe moleculele țintă membranare provoacă expunerea unor „neoantigene" care ar fi triggerul producerii anticorpilor. Aceștia sunt IgG specifici pentru complexul GP Ib.V.IX (sau mai rar pentru GP IIb IIIa). O predispoziție pentru trombocitopenie autoimună indusă de săruri de aur a fost notată la purtătorii antigenului HLA–DR 3. Alte medicamente care pot induce autoanticorpi antitrombocitari sunt alfa metil dopa, levo dopa, chinidina și valproatul de sodiu. Heparinoterapia poate genera trombocitopenie prin două mecanisme: a) nonimunologic (cu scăderea ușoară și reversibilă a numărului trombocitelor în primele cinci zile ale tratamentului) și b) imunologic (cu trombocitopenie severă care apare după 7–14 zile de tratament). Formarea anticorpilor ar putea fi indusă de „neoantigene" (vezi mai sus). Pe lângă

trombocitopenia imună, anticorpii induși de heparină pot provoca uneori agregare și activare plachetară generatoare de tromboze (16,38).

Oprirea imediată a medicamentului trombocitopenizant este obligatorie. În cazurile cu risc crescut se recurge la proceduri cu răspuns rapid (ex.: imunoglobuline i.v.) în asociere cu corticoterapie.

BIBLIOGRAFIE

1. AHN Y.S., HARRINGTON W.J., MYLVAGANAM R. și col. – *Danazol therapy for autoimmune hemolytic anemia.* Ann Intern. Med., 1985, 102, 298.
2. APĂTEANU V.I. – *Recoltarea, conservarea și transfuzia de sânge.* Editura Medicală – București, 1977, p. 211.
3. ARCHER G.T. – *Phagocytosis by human monocytes of red cells coated with Rh antibodies.* Vox Sang, 1965, 10, 590.
4. ASTER R.J., GEORGE J.N. – *Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by immunologic mechanisms.* In „Hematology" (Williams W.J. și col.) McGraw Hill, Inc. (N. York), 1990, p. 1370.
5. BACH J.E., LESAVRE P.H. – *Immunologie* (Flammarion Médecine–Sciences–Paris), 1989, p. 289, 309.
6. BAIN B.J., CLARK D.M., LAMPERT I.A. – *Bone marrow pathology.* Blackwell Scientific Publications (London), 1992, cap.7.
7. BALLEM P.J., SEGAL G.M., STRATTON J.R. și col. – *Mechanisms of thrombocytopenia in chronic autoimmune thrombocytopenic purpura: evidence of both impaired platelet production and increased platelet clearance.* J. Clin. Invest., 1987, 80, 33.
8. BELLUCCI S. – *Autoimmune thrombocytopenia.* Bailliére's Clin. Haematol., 1989, 2, 695.
9. BERCEANU ST., PĂUNESCU E. – *Biologia și patologia imunității.* Editura R.S.R. – București, 1981, p. 266.
10. BIRD G.W.G., WINGHAM J., RICHARDSON S.G.N. – *Myelofibrosis, autoimmune haemolytic anaemia and Tn – polyaglutinability.* Haematologia, 1985, 18, 2, p. 99–103.
11. BOWMAN J.M. – *The management of Rh–izoimmunisation.* Obstetr. Gynecol., 1978, 52, 1.
12. BROSTOFF J., SCADDING G.K., MALE D., ROIT J.M. – *Immunologie Clinique.* (De Boeck–Université), 1992, cap. 16.
13. BUSSEL J.B., DRUZIN M.L., CINES D.B. și col. – *Thrombocytopenia in pregnancy.* Lancet, 1991, 337, 251.
14. BUX J., MUELLER–ECKHART C. – *Autoimmune neutropenia.* Semin. Hematol., 1992, 29, 45.
15. CHIRICO G., DUZE M., UGAZIO A. și col. – *High dose intravenous gammaglobulin therapy for passive immune thrombocitopenia in the neonate.* J. Pediatr., 1983, 103, 654.
16. CHONG B.H., PITNEY W.R., CASTALDI P.A. – *Heparin–induced thrombocytopenia: association of thrombotic complications with heparin–dependent IgG antibody that induced thromboxane synthesis and platelet aggregation.* Lancet, 1982, II, 1246.
17. CLARKSON S.B., BUSSEL J.B., KIMBERLY R.P , și col. – *Treatment of refractory immune thrombocytopenic purpura with an anti Fc–receptor antibody.* New Engl. J. Med. 1986, 314, 1236.
18. COLIȚĂ D. – *Introducere în imunologie.* Editura Medicală–București, 1993, p. 118.
19. DACIE J.V., LEWIS S.M. – *Practical haematology.* Churchill Livingstone (Edinburgh), 1984.
20. DEVINE D.V., CURRIE M.S., ROSSE W.F., și col. – *Pseudo-Bernard Soulier Syndrome: thrombocytopenia caused by autoantibody to platelet glycoprotein Ib.* Blood, 1987, 70, 428.

21. ENGELFRIET C.P., OVERBEEKE M.A.M., von dem BORNE A.E.G. Kr. – *Autoimmune hemolytic anemia*. Semin. Hematol., 1992, 29, 3.
22. FIRKIN B.G., HUNT H.A., JANE S.M. – *Management of refractory idiopathic thrombocytopenia*. Blood, Rewies, 1988, 2, 149.
23. GARRATTY GEORGE, FIMLS, PATH M.R.C. – *Mechanisms of immune red cell destruction and red cell compatibility testing*. Human Pathology, 1983, 14, 3, 204–212.
24. GEWIRTZ A.M., KEEFER SUCCHETTI M., BIEN R. şi col. – *Cell-mediated suppression of megakaryocytopoiesis in acquired amegakaryocytic thrombocytopenic purpura*. Blood, 1986, 68, 619.
25. HABIBI B. – *Anémies hémolytiques autoimmunes prèmiere partie*. La şemaine des hôpitaux, 1989, 65, 23, 1465–1477.
26. HABIBI B. – *Anémies hémolytiques autoimmunes deuxième partie*. La semaine des hôpitaux, 1989, 65, 24, 1533–1541.
27. HARTMANN K.R., WRIGHT D.G. – *Identification of autoantibodies specific for the neutrophil adhesion glycoprotein CD 11b/CD 18 in patients with autoimmune neutropenia*. Blood, 1991, 78, 1096.
28. HOMBERG J.C. – *La maladie cronique des agglutinines froides*. Gaz. Méd. de France, 1981, 88, 1, 27–35.
29. JANDI J.H. – Blood: *Textbook of Hematology*. Little, Brown Comp. (Boston/Toronto), 1987, p. 285.
30. KAPLAN C., DAFFOS F., FORESTIER F. şi col. – *Management of alloimune thrombocytopenia: antenatal diagnosis and in utero transfusion of maternal platelets*. Blood, 1988, 72, 340.
31. KAPLAN C., DAFFOS F., FORESTIER F. şi col. – *Fetal platelet counts in thrombocytopenic pregnancy*. Lancet, 1990, 336, 979.
32. KAPLAN C., MORINET F., CARTRON J. – *Virus-induced autoimmune thrombocytopenia and neutropenia*. Semin. Hematol., 1992, 29, 34.
33. KIEFEL V., SANTOSO S., WEISHEIT M. şi col. – *Monoclonal antibody specific immunofixation of platelet antigens (MAIPA): La new tool for the identification of platelet-reactive antibodies*. Blood, 1987, 70, 1722.
34. KRAMER N., PEREZ H.D., GOLDSTEIN I.M. – *An immunoglobulin inhibitor of polymorphonuclear leukocyte motility in a patient with recurrent infection*. N. Engl. J. Med., 1980, 303, 1253.
35. KUNICKI T.J. – *Human platelet antigens*. In HOFMANN R., BENZ E.J., (JR), SHATTIL S.J., FURIE B., COHEN H.J. – Hematology, basic principles and practic. (Churchill Livingstone – N. York), 1991, p.1556.
36. LAFONTAINE M., LEBRUN S. *Immunohématologie*. (Decarie Editeur – Montréal), 1985, p. 167.
37. LEHMAN H.A., LEHMAN L.O., RUSTAGI P.K. şi col. – *Complement–mediated autoimmune thrombocytopenia*. New Engl. J. Med., 1987, 316, 194.
38. LESÈCHE G., DEUNINGER M.H. – *Thrombopénies induites par l'héparine: difficultés diagnostiques physiopathologiques et thérapeutiques*. Sang. Thrombose Vaisseaux, 1991, 3, 563.
39. LOGUE C.L., HUANG A.T., SHIMM D.S. – *Failure of splenectomy in Felty's syndrome*. The role of antibodies suporting granulocyte lysis by-lymphocytes. N. Engl. J. Med., 1981, 304, 580.
40. MACEY M.G., SANGSTER J., VEYS P.A. şi col. – *Flow cytometric analysis of the functional ability of neutrophiles from patients with autoimmune neutropenia*. J. Microsc. 1990, 159, 277.
41. McCULLOUGH J. – *Granulocyte antigen systems and antibodies and their clinical, significance*. Human Pathol., 1983, 14, 228.
42. McCULLOUGH J., CLAY M.E., HURD D. şi col. – *Effect of leukocyte antibodies and HLA matching on the intravascular recovery, survival and tissue localization of 111–Indium granulocytes*. Blood, 1986, 67, 522.

43. MAC INTYRE E.A., LINC D.C., MACEY M.G. şi col. – *Successful response to intravenous immunoglobulin in autoimmune haemolytic annaemia.* Br. J. Haematol., 1985, 60, 387.
44. MIESCHER P.A., TUCCI A., BERIS P. şi col. – *Autoimmune hemolytic anemia and/or thrombocytopenia associated with Lupus parameters.* Semin. Hematol., 1992, 29, 13.
45. MILLER W.V., HARMON J.A. – *Platelet serology and transfusion.* Human Pathol., 1983, 14, 221.
46. NIESNER H., CLEMENTSON K.J., PANZER S. şi col. – *Acquired thrombostenia due to GP IIb IIIa – specific platelet autoantibodies.* Blood, 1986, 69, 571.
47. PEDRAZZINI A. – *Les anémies hémolytiques à anticorps froids.* Médecine et Hygiène, 1992, 50, 1313–1317.
48. PEEVY K.J., WISEMAN H.J. – *ABO hemolytic disease of the newborn: evaluation of management and identification of racial and antigenic factors.* Pediatrics, 1978, 61, 475.
49. PESCE A.J., DOSEKUN A.K. – *Interrelations between the immune system, complement, coagulation and inflammation.* Clin. Physiol., Biochem. 1983, 1, 92.
50. PETZ L.D. – *Transfusion in special situations: autoimmune hemolytic anemia.* Human Pathol., 1983, 14, 251.
51. PILOTTO P.A., BERIS P.H., MIESCHER P.A. – *Anémie hémolytique autoimmune à anticorps chauds: nouveaux aspects thérapeutiques.* Médecine et Hygiène, 1992, 50, p.1328–1333.
52. ROCK G., DÉCARY F., TITTLEY P. şi col. – *Electroblotting and immunohistochemical staining for identification of platelet antibodies.* Brit J. Haematol., 1987, 67, 437.
53. ROITT J.M. – *Essential Immunology* (Blackwell Scientific Publications – Oxford) ed. VI-a, 1989, cap.1.
54. ROSENFIELD ST., LOONEY R., LEEDY J.P. şi col. – *Human platelet Fc receptor for immunoglobulin G. Identification of 40.000 – molecular weight membrane protein shared by monocytes.* J. Clin. Invest., 1985, 76, 2317.
55. ROSSE W.F., ADAMS J.P. – *The variability of hemolysis in the cold agglutinin syndrome.* Blood, 1980, 56, 409.
56. ROUGER P.H., SALMON C.H. – *La pratique de l'agglutination des érythrocytes et du test de Coombs.* Masson, Paris, 1981.
57. RUSTAGI P.K., HAN T., ZIOLKOWSKI L .şi col. – *Granulocyte antibodies in leukemic chronic lymphoprolipherative disorders.* Br. J. Hematol., 1987, 66, 461.
58. SALAMA A. şi col. – *Red blood cell transfusion in warm-type autoimmune haemolytic anaemia.* Lancet, 1992, 340, 8834/8835, 1515–1517.
59. SALAMA A., MUELLER-ECKHARDT C. – *Immune–mediated blood cell dyscrasias related to drugs.* Semin. Hematol., 1992, 29, 54.
60. SHASTRI K.A., LOGUE G.L. – *Autoimmune neutropenia,* Blood, 1993, 81, 1984.
61. SHULMAN I.R.A.A., M.D.; BRANCH DONALD R., MT(ASCP) SBB: NELSON JANICE M., MD; şi col. – *Autoimmune hemolytic anemia with both cold and warm autoantibodies,* Jama, 1985, 253, 12, p. 1746–1748.
62. SILBERSTEIN L.E., ROBERTSON G.A., HANNAM HARIS A.C. şi col. – *Etiologic aspects of cold agglutinin disease: evidence for citogenetically defined clones of lymphoid cells and the demonstration that an anti-Pr cold autoantibody is derived from chromosomal aberrant B-cell.* Blood, 1986, 67, 1705.
63. SILBERSTEIN L.E., M.D.; BERKMAN E.M. M.D., SCHREIBER A.D. – *Cold hemagglutinin disease associated with IgG cold-reactive antibody.* Annals of Internal Medicine, 1987, 106, 238–242.
64. SOKOL R.J., HEWITT S., STAMPS B.K.: *Autoimmune hemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre.* Br. Med. J., 1981, 282, 2023.
65. THROMP O.A. (Jr.) – *Fundamentals of Clinical Hematology.* – W.B. Saunders Comp. (Philadelphia), ed. V-a, 1987.
66. TISSOT J.D., GROB J.P.H., SCHENEIDER P.H. – *Les anémies hémolytiques auto-immunes.* Médecine et Hygiène, 1990, 48, p. 834–386.

67. TISSOT J.D., SCHNEIDER P.H. – *Les hémolises post-transfusionnelles retardées d'origine immunologique*. Médecine et hygiènes 1992, 50, p. 1325–1326.
68. VAN DER VEEN J.P.W., HACK C.E., ENGELFRIET C.D .și col. – *Chronic idiopathic and secondary neutropenia: clinical and serological investigations.* Br. J. Haematol., 1986, 63, 161.
69. VON DEM BORNE A.E.G.Kr., VERHEUGHT F.W.A., OOSTERHOF F.și col. – *A simple immunofluorescences test for the detection of platelet antibodies.* Brit. J. Haematol., 1978, 39, 195.
70. VON DEM BORNE A.E.G.Kr., OUWELAND W.H. – *Immunology of platelet disorders.* Baillière's Clin. Haematol., 1989, 2, 749.
71. WATERS A.H. – *Autoimmune thrombocytopenia: clinical aspects.* Semin Hematol., 1992, 29, 18.
72. YOMTOVIAN R., KLINE W., PRESS C. și col. – *Pulmonary hypersensibility and leukopenia associated with anti NA2 neutrophil antibody in donor plasma* (abstr.). Transfusion, 1982, 22, 426.
73. ZUCKER–FRANKLIN D., KARPATKIN S. – *Red cell and platelet fragmentation in idiopathic thrombocytopenia purpura.* New Engl. J. Med., 1979, 297, 517.

DEFICITELE IMUNE

Medic primar dr. IOANA RĂILEANU-MOȚOIU
Cercetător științific principal I
Șeful Laboratorului Imunologie Celulară
al Clinicii de Hematologie
Spitalul Clinic Fundeni
București

Prof. dr. DAN COLIȚĂ
Clinica de Hematologie
Spitalul Clinic Fundeni
Universitatea de Medicină și Farmacie
București

INTRODUCERE

Sistemul imun menține integritatea fiziologică a organismului prin eliminarea substanțelor străine sau a agenților infecțioși din mediul extern. Această funcție biologică se realizează prin cooperarea a două tipuri de mecanisme definite ca: I) imunitate nespecifică sau naturală și II) imunitate specifică sau adaptativă.

Prima linie de apărare este asigurată de barierele naturale, pielea și mucoasele implicând sistemul celulelor fagocitare, sistemul complement împreună cu alți factori nespecifici. Secvențial se activează componentele celulare ale imunității specifice care induc elementele efectoare celulare (limfocitele citotoxice) și umorale: (anticorpii) capabile să elimine agentul agresor.

Spre deosebire de imunitatea nespecifică, ce se manifestă spontan, sistemele imunității specifice necesită o activare prealabilă și au capacitatea de „memorizare" a antigenului cu care a venit în contact astfel că la repetarea infecției, răspunsul imun specific va fi mai rapid și mai amplu. Cele două tipuri de imunitate se completează prin interacțiuni complexe, realizând un răspuns imun eficient.

Orice diminuare sau funcționare anormală a unor componente celulare sau umorale ale sistemului imun poate avea ca urmare răspunsuri imune insuficiente în rezolvarea infecției. În 1952 Burton (1, 3) definește conceptul de deficit imun prin noțiunea de sensibilitate a organismului față de agenții infecțioși patogeni ca și față de cei nepatogeni pentru omul sănătos (germeni, „oportuniști").

Manifestările clinice în deficitele imune sunt variabile în funcție de anumitele forme de infecție, dar au ca trăsături generală repetarea, cronicizarea și severitatea infecțiilor. Destul de frecvent se constată o asociere cu manifestări alergice sau autoimune. În unele tipuri de deficit imun se notează un risc crescut pentru boli maligne.

Ca mod de producere, se disting deficitele imune *primare*, congenitale, de cele *secundare* unor cauze cunoscute. Acestea pot fi: subnutriția, infecția cu HIV (human immunodefficiency virus), neoplazii, terapia citotoxică ca și alte stări patologice. Cele două tipuri de deficit imun diferă și sub alte aspecte.

Astfel procesul infecțios este urmarea unui deficit imun primar, dar poate provoca deficite imune secundare. În acest sens se menționează infecția virală, mai ales cu HIV, infecțiile micotice, lepra, malaria ca și alte parazitoze.

În deficitele imune primare este implicată în mod predominent numai una din componentele imunității (specifică, nespecifică, celulară sau umorală), aspect mai puțin evident în deficitele imune secundare, care cuprind deopotrivă toate laturile imunității. Nivelul lezării imunologice poate fi mult mai accentuat în deficitele imune primare, față de cele secundare, conducând la infecțiile grave, letale ale primei copilării.

Ca frecvență însă, deficitele imune primare sunt boli mult mai rare decât cele secundare. Acestea din urmă interesează o mare parte din populația globului, care suferă de subnutriție, boli parazitare, iar în ultimii ani de infecția cu HIV.

Mecanismele patogenice ale deficitelor imune primare încep să fie cunoscute, datorită progreselor tehnicilor de cercetare din ultimii ani. Majoritatea lor sunt explicate prin blocarea unor etape ale maturării limfocitare și implicit a unor căi de interrelație ale răspunsului imun (2). Acest mod de interpretare contribuie la înțelegerea producerii și a deficitelor imune secundare, lămurind unele aspecte de bază ale mecanismului răspunsului imun.

DEFICITELE IMUNE PRIMARE

1. DIAGNOSTICUL CLINIC

Starea de deficit imun poate fi bănuită la orice bolnav cu infecții repetate, grave sau cu germeni neobișnuiți. Precizarea diagnosticului rămâne încă o problemă dificilă. Se apreciază astfel că peste 50% din cazuri, au deficit imun primar neclasificabil, sau cu manifestări discrete (3). Restul cazurilor au simptome evidente de deficit ce cuprinde un singur compartiment al imunității. Imunitatea nespecifică este mai frecvent afectată.

Debutul deficitelor imune primare poate fi la orice vârstă, dar se întâlnesc mai frecvent în perioada copilăriei. Deficitele imune ce cuprind în principal imunitatea mediată celular, sunt evidente imediat după naștere. Deficitul în anticorpi se manifestă cel mai devreme între 2–4 luni, deoarece până la această vârstă copilul este protejat de anticorpii primiți de la mamă. La adolescentul tânăr sau la adult, se pot diagnostica deficitele parțiale de Ig (imunoglobuline), ca și grupul definit ca deficit imun comun variabil.

Constatarea unui număr crescut de infecții sau de episoade alergice la membrii de familie, poate avea valoare diagnostică. Lipsa acestor date nu infirmă diagnosticul.

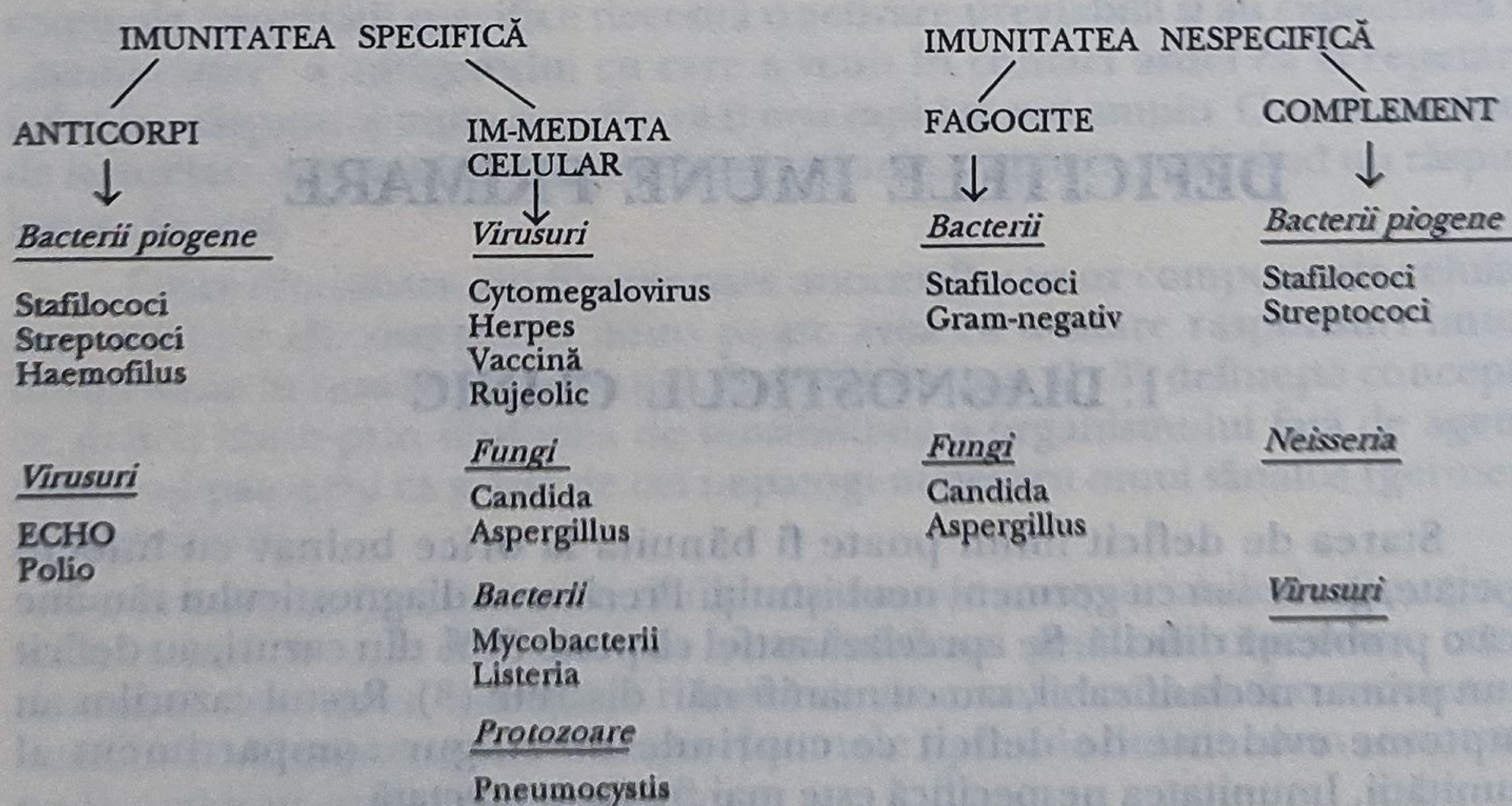
Simptomatologia este dominată de prezența infecțiilor. În anumite forme de deficit imun se constată o frecvență crescută de manifestări de hipersensibilitate ca și de boli auto-imune.

1.1. INFECȚIILE

Tipul de deficit imun poate fi stabilit și în baza germenilor izolați din focarul infecțios. Astfel, în deficitul imun umoral predomină infecțiile cu bacterii piogene, iar în deficitul mediat celular pe primul plan sunt germenii intracelulari, virușii, micozele și paraziții (schema 1) (3).

Schema 1

Germenii ce caracterizează deficitele imune



Cele mai frecvente localizării infecţioase interesează aparatele respirator şi digestiv. Aceste infecţii se deosebesc prin repetarea lor, severitate şi prezenţă simultană în mai multe focare. Se notează: rino-faringite, otite, etmoidite, mastoidite, bronşite, pneumonii. O mastoidită declanşată la copil, ridică un semnal de alarmă şi impune investigarea imunităţii umorale (14). Prin repetarea lor infecţiile pulmonare se complică cu bronşiectazie (simptom constant în agamaglobulinemie), emfizem sau fibroză pulmonară. La nivelul aparatului gastro-intestinal, simptomatologia cea mai obişnuită este determinată de diareea cronică. Se produce prin diferite mecanisme: infecţii cu sallmonela, colibacil, Giardia; malabsorbţie produsă în urma atrofiei vilozităţilor intestinale; enteropatie exudativă; alergie alimentară la gluten sau la lapte de vacă. Secundar atrofiei gastrice se produce anemia megaloblastică. Infecţiile meningeale sau osoase ce se repetă la un copil mic, sunt manifestări de hipogamaglobulinemie (3). Cele produse de Neisseria şi îndeosebi cu evoluţie fulminantă, sunt patognomonice deficitelor căii alterne a complementului.

În deficitele imunităţii mediate celular, se întâlnesc infecţii cutanate micotice sau virale ca: zona zoster, varicella, herpes. După vaccinarea BCG se produc reacţii exagerate. În acelaşi context pot fi prezente determinări cerebrale prin infecţii cu: herpes, papovirus, citomegalovirus, rujeolă, toxoplasmoză, Lysteria sau Criptococcus.

Persistenţa abceselor viscerale, adenitele supurate, sau eczematidele fără deficit imun umoral, pot fi manifestări ale deficitelor sistemului fagocitar sau al sindromului cu hiper IgE.

1.2. MANIFESTĂRI AUTO-IMUNE

Indică anomalii ale reglării imunologice. Sunt frecvente în anumite tipuri de deficit imun şi anume cel al imunităţii umorale şi în deficitele căii clasice a complementului. Se menţionează: artrita reumatoidă, sindromul Sjögren, dermatomiozite, purpure reumatoide sau trombocitopenice imune, alte citopenii, sindroame lupice, glomerulonefrită.

1.3. MANIFESTĂRILE DE HIPERSENSIBILITATE

Ca alergii, atopii, accidente iatrogene produse prin mecanisme imune, au valoare diagnostică susţinută de prezenţa unor infecţii.

2. EXAMENUL OBIECTIV

Copilul prezintă încetinirea sau chiar oprirea creșterii ponderale, în cazurile grave fiind urmată și de deficite staturale. Sistemul limfatic este reprezentat prin amigdale atrofice, ganglioni limfatici nepalpabili, splină de dimensiuni reduse. În sindroamele de deficit imun mediat celular se constată imagistic și atrofia timusului. Atrag atenția complicațiile infecțiilor repetate cum sunt ruptura timpanului, bronșiectazia. Sunt rare cazurile ce prezintă anomalii scheletice (deficit enzimatic ADA, sindrom DI George) sau leziuni cardiace.

3. EXAMENE DE LABORATOR PENTRU STUDIUL IMUNITĂȚII

3.1 DETERMINĂRILE CANTITATIVE ALE Ig (IMUNOGLOBULINELOR)

Se referă la măsurarea concentrației serice a Ig, valorile claselor de Ig și măsurarea componentei secretorii IgA (Tabelul 1).

Tabelul 1

Proprietățile claselor de imunoglobuline serice

	IgG	IgM	IgA	IgE	IGD
Tip de lanț greu					
Greutate moleculară	150.000	900.000	160.000 400.000	200.000	175.000
Coeficient sedim	7 S	19 S	7,11 S	8 S	6 S
mg/100ml adult	800–1200	100–200	120–400	0,05	3
1/2 durată viață zile	23–25	5	6	23	
transplacentar	+	–	–	–	–
aglutinanți	+	+	+	–	–
precipitanți	+	–	–	–	–
fixatori C'	+	+	–	–	–
activează mastocite	–	–	–	+	–
în lumen intestinal	–	–	+	–	–

Nivelul seric al Ig are variaţie în funcţie de vârstă, de mediu dar şi individ. În condiţii normale valorile Ig serice rămân relativ constante datorită echilibrului între: sinteză, degradare şi distribuţie între compartimentele vascular sau tisular (14).

Distribuţia pe compartimente diferă după clasa de Ig. Astfel IgG este egal repartizat între sânge şi ţesuturi, IgM prezent numai intra vascular, iar IgA este mai concentrat în secreţii. Eliminarea catabolică a Ig variază direct proporţional cu scăderea albuminei serice. Se pot diferenţia hipogamaglobulinemiile datorită unei sinteze reduse de cele produse prin pierderi sau catabolism crescut, prin studii de turnover metabolic (ştiind că în lipsa stimulării antigenice 1/2 de viaţă este IgG=23 zile, IgM=5,1 zile, IgA=6 zile, IgE=23 zile).

În bolile cu deficit imun se constată de obicei hipogamaglobulinemie şi foarte rar o lipsă a Ig.

Concentraţia normală de Ig nu exclude însă deficitul funcţiei anticorpilor faţă de anumiţi antigeni. Astfel dacă anticorpii aparţin unei subclase minore de Ig (ex. IgG2), determinarea lor cantitativă va fi subliminară faţă de posibilităţile dozării lor. De aceea sunt indicate testele pentru anticorpi.

3.2. TESTAREA ANTICORPILOR „NATURALI"

- izohemaglutinine A, B, Rh
- heteroaglutinine IgM anti hematii oaie
- antistreptolizine
- anticorpi bactericizi faţă de E.coli.

3.3. TESTAREA FUNCŢIEI ANTICORPICE DUPĂ IMUNIZARE ACTIVĂ

Fie cu germeni omorâţi, neatenuaţi, fie cu antigeni nelezanţi:

– Vaccinare diftero-tetanică – dozarea anticorpilor după două săptămâni.

– Vaccinare diftero-tetanică – reacţia intra-dermică Schick după două zile

– Vaccinare Hemofilus influen. – dozarea anticorpilor neutralizanţi.

– Vaccinare urliană – dozarea anticorpilor fixatori de complement.

3.4. EVALUAREA CANTITATIVĂ A SUBPOPULAȚIILOR LIMFOCITARE T ȘI B DIN SÂNGE

Folosind metoda fenotipării imune (tabelul 2). Prin metoda clasică se identifică receptorii de suprafață specifici limfocitelor T, prin rozetare E; iar pentru limfocitele B se determină prezența și intensitatea fluorescentă a IgM sau IgG de membrană. Testele cu anticorpi monoclonali pot fi efectuate prin imunfluorescență cu dublu strat sau prin folosirea aparatelor cu citometrie în flux. Pe lângă numeroase avantaje, această metodă automată permite evaluarea simultană a numărului de limfocite T și B folosind două culori fluorescente.

Tabelul 2

Fenotipare imună a limfocitelor T și B

CD	Specificitate celulară	Funcție
1.	timocite corticale	ND* **)
2.	timocite-limfocite T	receptor pt. HO=Rozetare E receptor LFA_3=activare alternă
3.	T matur	receptor recunoaștere antigen activare
4.	T helper	receptor HLA II, adesiune
5.	T matur	ND
7.	timocite-limfociteT	receptor FcIgM
8.	T citotoxic, și supresor	receptor HLA I, adesiune
45.Ra	T	inductor supresie
45.Ro	T	inductor help, memorie imună
10.	pre-B	enzimă, reglare creștere
11. a	B virgin	receptor ICAM, adesiune
19.	pre-B la matur	mol. adesiune
20.	B	semnale activare
21.	B matur	receptor C_3d=Rozetare EAC și receptor EBV
22.	B matur	receptor C_3b=Rozetare EAC o
5.	subpopulație B	auto reactiv
44.	B memorie	
HLA II	B pan antigen	reglare răspuns imun
IgM, IgG, supraf.	B matur	receptor antigen, funcțional sp.
IgM intra, citopl.	pre-B	ND
IgG intra citopl.	B diferențiere termin.	sinteză IgG

*) ND= nedeterminat
**) HO=hematii de oaie.

3.5. TESTAREA FUNCȚIEI LIMFOCITELOR T ȘI B PRIN METODA CULTURILOR CELULARE IN VITRO

Cu stimulare policlonală cu mitogeni sau de rapel cu antigeni (tabelul 3). Competența imună a limfocitelor T se măsoară prin testul de transformare blastică după 72 ore de cultivare cu PHA (phytoheamagglutinin), răspunsul se evaluează morfologic sau după încorporare de ^{3}HTr (timidină tritiată) măsurată prin scintilație lichidă. Limfocitele B, în prezența limfocitelor TH (T helper) răspund la PWM (Pokeweed Mitogen) prin transformare în celule plasmocitoide și secreție de anticorpi. Evaluarea se face prin imunofluorescență sau dozare radio-imună. Pentru studiul funcției secretoare de anticorpi de la bolnav, testul se efectuează cu limfocitele B ale bolnavului și limfocite T izolate de la donator sănătos.

Tabelul 3

Teste in vitro de evaluare a răspunsului in vitro la mitogene și antigene

Stimulent	Răspuns				
	T_H	T_S	T_C	NK	B
PHA: phytohaemagl	++	+	–	–	–
Con. A: Concanavalin	+	++	–	–	–
PWM: Pokewwed mit.	+	–	–	–	+
PPD: tuberculin pur.	+	–	–	+	+
MLR: reacție mixt, limf.	+	–	+	–	–
ADCC: Citotoxicitate depend. anticorpi	–	–	+	–	–
Test NK	–	–	–	+	–

Funcția de reglare imună a limfocitelor T, se studiază prin testele devenite clasice „helper" și „supresor". Limfocitele T izolate de la bolnav se cultivă împreună cu limfocite B de la donator normal, care sub stimul mitogenic PWN se vor diferenția plasmocitic și vor secreta anticorpi. În testul supresor limfocitele T se prestimulează în vitro cu ConA (Concanavalin A) apoi funcția lor se evidențiază prin inhibarea transformării blastice în test univalent MLR (reacție mixtă limfocitară).

Răspunsul imun secundar poate fi studiat, de asemeni, prin metoda culturilor limfocitare, folosind însă numai antigeni hidrosolubili. Cel mai folosit este PPD (purified protein derivative tuberculină).

Testele funcționale limfocitare oglindesc imun-competența funcțională dar au dezavantajul de a fi laborioase, scumpe și de a necesita personal experimentat.

3.6. REACŢIILE INTRA-DERMICE DE HIPERSENSIBILITATE TARDIVĂ

Sunt teste clasice, mai uşor de efectuat chiar dacă în unele cazuri bolnavul suportă apariţia unor leziuni necrotice. Reacţia se induce fie ca sensibilizare activă folosind DNCB (1-cloro-2, 4-dinitrobenzen) sau în baza imunităţii preexistente, se injectează antigeni de tipul: PPD, candidină, trichophytin, antigeni streptococici, tetanic, difteric sau rujeolic. Inflamaţia locală, apărută după 48–72 ore, măsoară funcţia limfocitelor T_{DH} (T de sensibilitate tardivă) de secreţie de limfokine ca şi funcţia chemotactică.

3.7. STUDII SPECIALE FOLOSITE PENTRU DIAGNOSTICUL ANUMITOR TIPURI DE DEFICITE IMUNE:

– Dozarea enzimelor: ADA (adenosindesaminază) sau a PNP (purinnucleosid fosforilază) se efectuează la cazurile suspecte de deficit imun T sau deficit imun combinat sever (8).

– Dozarea enzimelor în sânge se face prin test screening cu gel de agar; mai exactă este electroforeza şi determinarea cantitativă.

– Dozarea alfa-fetoproteinei serice cu test radio imunologic, diferenţiază ataxia-teleangiectazia de ataxia din alte boli neurologice.

– În anemiile macrocitare sau megaloblastice se dozează transcobalamina II în plasmă.

– Autoanticorpii antilimfocitari se pun în evidenţă prin test imunofluorescent sau citotoxic.

3.8. EXPLORAREA FUNCŢIEI FAGOCITARE A GRANULOCITELOR NEUTROFILE ŞI MACROFAGELOR.

Se poate efectua prin mai multe teste corespunzătoare etapelor funcţionale.

– Motilitatea se studiază prin testul de migrare în tub capilar.

– Chimiotactismul: se evaluează migrarea în tub capilar sau în mediu de agaroză sub influenţa unor substanţe chimiotactice.

– Aderarea se studiază prin testul de aderare pe sticlă sau plastic.

– Opsonizarea: evaluată în funcție de fagocitarea și microorganisme învelite cu anticorpi și complement.

– Ingestia de particole se cuantifică prin numărare la microscop a microorganismelor fagocitate, sau se folosesc metode radioactive.

– Puterea bactericidă: omorârea intracelulară a microorganismelor este condiționată de reacții de oxido-reducere. Acestea se pun în evidență prin reacție de culoare folosind ca substrat nitro-blautetrazolium-NBT, test curent folosit în clinică.

3.9. EXAMENELE HEMATOLOGICE SUNT IMPORTANTE PENTRU APRECIEREA CANTITATIVĂ ABSOLUTĂ, ȘI RELATIVĂ A NUMĂRULUI DE LIMFOCITE

Limfopenia sub 1000/mm^3 ($1x10^9/1$) poate fi datorată și altor cauze ca boli virotice, subnutriție, boli auto-imune. Invers, un număr normal de limfocite nu infirmă diagnosticul de deficit imun.

Trombocitopenia, sau dimensiunea mică a trombocitelor poate indica sindromul Wiscot-Aldrich.

Anemiile hemolitice auto-imune se asociază cu multe tipuri de deficit imun. Nu este rară nici anemia megaloblastică. În deficitul limfocitelor T datorită lipsei enzimei PNP, anemia hipoplastică este constant întâlnită.

3.10. EXAMENUL ANATOMO-PATOLOGIC

Biopsia ganglionară indică depleția limfocitară din zonele T sau B dependente. Biopsiile intestinale sau rectale sunt relevante pentru prezența sau absența limfocitelor și plasmocitelor. În aceleași piese se poate identifica componentul secretor al IgA.

Biopsiile de piele se efectuează după transplantare sau după transfuzii de sânge pentru evaluarea producerii reacției grefă contra gazdă (14).

4. DIAGNOSTICUL PRENATAL

Stabilirea sexului fătului este important în familiile cu factori de risc, pentru depistarea timpurie a deficitelor imune transmise ereditar în legătură cu cromozomul X, și care sunt deosebit de grave (1).

Între a 10–12 săptămână de gestație se pot doza enzimele ADA sau PNP, pe celule fibroblastice amniotice cultivate in vitro. După a 20-a săptămână de gestație se prelevează celule sanguine din cordonul fetal din care se identifică limfocitele T și B prin fenotipare imună, incluzând evidențierea expresiei moleculelor HLA II pe membrană.

Folosirea sondelor de ADN extras din celulele trofoblastice identifică anomaliile genice caracteristice anumitor deficite imune (tabelul 4).

Tabelul 4

Anomalii genice

Tipul de deficit imun	Localizare genică
SCID cu limfocite B	X q 11–13
Agamaglobulinemia Bruton	Xq 21–22
Hipogamaglobulinemie cu hiper IgM	Xq 24–27
Sindrom Wiskott-Aldrich	X p 11
Granulomatoza cronică	X p 21,1
Deficit ADA	20 q 13
Deficit PNP	14 q 13,1
40% din Ataxie-teleangectania	11 q 22,3

5. DIAGNOSTICUL ÎN PERIOADA TIMPURIE

În prezența unei hipogamaglobulinemii la copil, după eliminarea cauzelor ce pot produce deficit imun, rămâne de diferențiat agamaglobulinemia legată de sex de aspectul transitoriu al copilăriei. Diagnosticul se precizează prin dozarea IgM care este redusă în prima boală dar crește la valori normale în prima săptămână de viață în a doua.

Imediat după naștere se poate preciza diagnosticul de deficit în ADA la copii suspecți, prin testarea enzimei pe hematii (8).

Explorarea imagistică a timusului are valoare de diagnostic pozitiv, deoarece un timus normal exclude diagnosticul de deficit imuncombinat sever.

6. MOD DE TRANSMITERE ȘI MECANISME PATOGENICE

Majoritatea deficitelor imune primare sunt boli ereditare, transmise după legile mendeliene în mod recesiv, fapt ce explică frecvența lor redusă. De obicei defectul este autosomal, însă în cinci afecțiuni cunoscute până în

prezent, defectul genetic este plasat pe cromozomul X, astfel că boala se manifestă numai la băieţi (tabelul 4). În aceste boli nu s-a identificat un al doilea locus genetic anormal (6). Astfel s-a emis ipoteza că în raport cu cromozomul X ar exista o familie de gene cu rol în diferenţierea limfocitelor T şi B ale cărei mutaţii pot produce deficite imune. Dovezile în acest sens, obţinute pe linii murine, nu au, până în prezent echivalent şi la om. (1).

Datorită progreselor tehnicilor de genetică şi de biologie moleculară, încep să se cunoască defectele genetice determinante ca şi aspectul biochimic al mecanismelor de producere şi în alte deficite imune. În deficitele enzimatice s-au localizat genele implicate : locusul pentru ADA este pe cromozomul 20q13 iar cel pentru PNP. pe cromozomul 14q13,1. Lipsa sintezei acestor enzime produce acumularea unor produşi intermediari ce interferează cu diferite căi metabolice, care conduc în principal spre sinteza ADN (acid deoxiribonucleic). Ca urmare mitozele liniei limfocitare nu se mai produc, se adaugă şi efectul toxic al unor metaboliţi (7).

În deficitele imune combinate severe nu are loc maturarea de la progenitori spre liniile T şi B. Se suspectează anomalii în procesul de rearanjare a genelor ce codifică receptorii de recunoaştere antigenică: TCR pe limfocitele T şi cel imunoglobulinic de la B. Studiile unui deficit imun similar la o linie de şoareci, indică o activitate defectuoasă a recombinazei la nivelul segmentelor de codare V-D-J-C respective ale celor doi receptori (6).

Defectul sintezei moleculei HLA II, studiat prin sonde ADN, constă în lipsa ARN mesager, chiar dacă genele corespunzătoare de pe cromozomul 6 sunt normale. Ar fi datorate unei reglări genice anormale, sau sunt implicate în anomalie şi alte gene cu rol în sinteza moleculelor HLA. Lipsa proteinelor HLA I şi II de pe celulele dendritice şi stromale timice împiedică procesul de maturare T intra-timică; iar în absenţa moleculelor HLA II la nivel periferic, nu se mai produc interrelaţiile celulare în cadrul răspunsului imun.

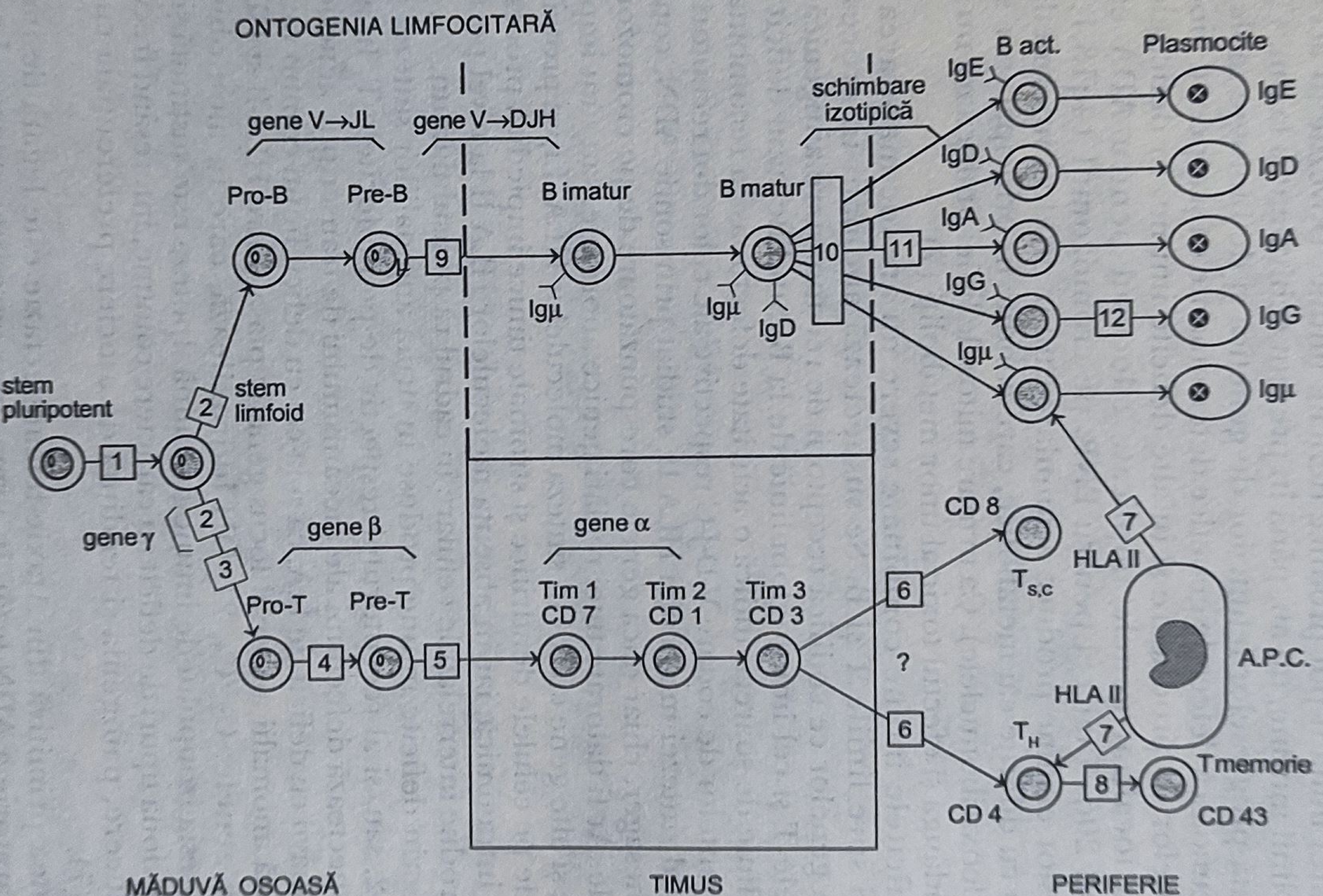
Se descriu deficite imune produse în urma anomaliilor sintezei interleukinei IL-2, sau/şi al receptorului respectiv de pe limfocitele T. În aceste cazuri se suspectează defecţiuni ale mecanismului de transcripţie genetică.

La bolnavii cu deficit de IgA, ca şi la cei cu deficit imun comun variabil, se suspectează anomalii ale unui locus genetic plasat între HLA-B şi HLA-D, ce cuprinde genele: C_2, C_4, 21–OH hidroxilează, care în mod obişnuit reglează expresia izotipului de imunoglobulină. Ipoteza este susţinută şi prin faptul că cele două tipuri de deficit au caractere comune, interesând frecvenţa lor de producere, patogenia şi tendinţa de asociere preferenţială cu boli autoimune (7).

Leziunea primitivă din Ataxie-teleangectazie este legată de incompetenţa reparatorie a ADN lezat, în urma unor agresiuni externe. Locusul genetic afectat de pe cromozomul 11q 22–23, conţine gene ce codifică subunităţile γ, δ, ε, ale antigenului CD_3 ca şi moleculele de adeziune pentru celulele neuronale (6).

Schema 2

Patogenia deficitelor imune primare în raport cu ontogenia limfocitară



1=discenezie reticulară; 2=alimfocitoză cu agamaglobulinemie și deficit ADA; 3=deficit PNP; 4=SCID cu limfocite B-sex legat de sex; 5=aplazia timică Di George; 6=Ataxie teleangiectazie; 7=Sindromul limfocitelor „despuiate"; 8=Sindrom Wiskott-Aldrich; 9=Agamaglobulinemia-sex Brutan; 10=Sindrom cu hiper IgM, hipogamaglobulinemie-sex; 11=Deficit selectiv IgA; 12=Deficit izotipuri IgG.

Unele forme de deficit imun primar, nu prezintă o frecvență familială. Astfel, sindromul Di George cu aplazie timică, este efectul nedezvoltării pungilor faringiene 3 și 4, datorită unei embriopatii. În alte cazuri se bănuiesc infecții *virotice* ale mamei în timpul gestației.

Uneori cauzele rămân necunoscute, cum este cazul în Candidoza muco-cutanată și în multe alte deficite imune.

Analiza fenotipică, testele funcționale limfocitare și numeroase date experimentale sugerează ca mecanism patogenic comun deficitelor imune primare, specifice blocări ale proceselor de maturare și de diferențiere limfocitare. Ca urmare se produce insuficiența funcțională a limfocitelor T sau/și B. În principiu aceste blocări ar fi posibile în diferite etape atât la nivelul ontogeniei limfocitare, cât și pe parcursul răspunsului imun. (schema 2) (2). Spre deosebire de limfoproliferările maligne, a căror patogenie se explică tot prin procese de blocare ale unor etape de maturare limfocitară, în cazul deficitelor imune nu are loc și proliferarea anormală a celulelor anterioare nivelului de blocare.

Până în prezent această explicație patogenică este cea mai plauzibilă și logică, fiind acceptată de majoritatea autorilor (3, 1).

În acest context se încearcă clasificarea celor peste 50 de tipuri de deficit imun primar pe baza a trei aspecte principale: nivelul producerii anomaliei imunologice, modul de transmitere și asociațiile simptomatice (tabelul 5).

Tabelul 5

Clasificarea deficitelor imune primare specifice

Denumire	Defect primar	Ereditate
A) DEFICITE MIXTE: SCID		
1) Disgenezia reticulară	celula stem plurip.	R.A.*)
2) Alimfocitoza cu agamaglobulinemie elvețiană	celula stem limfoidă	R.A.
3) Deficit ADA	celula stem limfoidă	R.A.
4) SCID cu limfocite B	progenitori T	R.X.-)
5) Sindromul limfocitelor „despuiate”	lipsă HLA II	R.A.
6) Alte deficite imune mixte		
B) DEFICITE ALE IMUNITĂȚII MEDIATE CELULAR		
1) Deficit PNP	progenitori T	R.A.
2.) Sindrom Di George-aplazia timică embriopatie	precursori T	
3) Deficite ale funcției T		
3.1. Deficit de IL-2		
3.2. Deficit de CD3-TCR		
4) Asociate cu alte simptome		
4.1. Sindromul Wiskott-Aldrich	lipsa sintezei CD43	R.X.
4.2. Ataxie teleangiectazie	defect reparare ADN	R.A.
4.3. Candidioza muco-cutanată cr.	mecanism supresor?	familială

Tabelul 5 (continuare)

Clasificarea deficitelor imune primare specifice

Denumire	Defect primar	Ereditate
C) DEFICITE ALE IMUNITĂŢII UMORALE		
I Hipogamaglobulinemii globale		
1) Agamaglobulinemia legată de sex	precursori B	R.X.
2) Hipogamaglobulinemia comună variabilă	mecanisme multiple	nefamil.
3) Sindrom cu hiper IgM şi hipogama gl. letate de sex	defect schimb, izotipică	R.X.
4) Hipogamaglobulinemie cu timom	celule tumorale?	nefamil.
5) Hipogamaglobulinemia pasageră a primei copilării	diferenţiere B întârziată	nefamil.
II Hipogamaglobulinemii selective ale claselor de Ig		
1) Deficit selectiv de IgA	defect schimbare izotipică	famil.
2) Deficite selective ale subclaselor de IgG	defect schimbare izotipică	famil.

*)R=recesiv;
A=autosomial;
-)X=cromozom X.

Vor fi prezentate principalele sindroame de deficit imun primar specific în ordinea corespunzătoare etapelor ontogenice blocate de la etapele cele mai timpurii care cuprind ambele linii T şi B continuând apoi pe parcursul maturării liniei T apoi B.

DEFICITELE IMUNE PRIMARE SPECIFICE

A) SINDROAME DE DEFICIT IMUN COMBINAT SEVER (SCID=severe combined immune deficiency).

Cele mai grave forme de deficit imun sunt datorate blocării procesului ontogenic limfocitar la nivelul celulelor stem sau progenitoare. Ca urmare, manifestările vor fi legate de deficitul ambelor linii limfocitare T şi B, deci un deficit mixt. Sunt astfel interesate ambele laturi ale imunităţii cea umorală şi cea mediată celular. Transmise ereditar în mod recesiv, majoritatea sindroamelor fiind autosomale, numai forma cu limfocite B prezente este legată de cromozomul X.

Debutul se produce în perioada perinatală, sau după 3 luni, cu simptome deosebit de grave: infecţii bacteriene, virale sau micotice. Acestea sunt localizate la mai multe organe, dar mai ales la nivelul tubului digestiv şi aparatului pulmonar. Copii sunt subdezvoltaţi şi au displazie timică.

La examenul sanguin se constată limfopenie ce cuprinde și limfocitele T și pe cele B. Sinteza de IgM este foarte redusă chiar imediat după naștere, iar lipsa IgG devine evidentă după trei luni, perioadă până la care au fost înlocuite de IgG materne. Toate funcțiile imune mediate celular sunt absente (reacții de hipersenbilitate tardivă, reacții citotoxice, iar grefele sunt tolerate).

Organele limfatice au depleție limfocitară. Ganglionii limfatici sunt mici, nu au nici centrii germinativi, nici plasmocite. Atrofia plăcilor Peyer se remarcă în mucoasa intestinală. Timusul rămâne un rudiment recunoscut după resturi de corpi Hassal.

În funcție de patogenie, se disting cinci forme distincte, (schema 2).

1) **Disgenezia reticulară** este manifestarea lezării celulei stem pluripotente. Sunt interesate toate leucocitele producând deficit imun umoral și celular, lipsa funcțiilor fagocitelor și anomalii hematopoietice.

2) **Alimfocitoza cu agamaglobulinemie de tip elvețian.** A fost diagnosticată prima dată în Elveția la un grup de copii care au făcut reacție generalizată letală după vaccinare cu BCG (15). Defectul genetic se plasează la nivelul celulei stem limfoide care nu se poate diferenția spre liniile T și B. Simptomatologia clinică reflectă limfopenia și lipsa de sinteză a anticorpilor.

3) **Deficitul adenozindesaminazei – ADA** cuprinde 25% din cazurile cu SCID, și este entitatea cel mai bine studiată. Enzima nu se sintetizează datorită unei anomalii ale genei structurale plasată pe cromozomul 20. ADA este o enzimă a căii purinice, catalizează dezaminarea adenozinei și a dezoxiadenozinei pentru a produce inosină. În lipsa ei procesele de mai sus nu se produc, se blochează mai multe căi metabolice având ca urmare acumularea de produși intermediari. Dintre aceștia este cunoscut efectul toxic al dezoxiadenozinei asupra limfocitelor T în repaus și în diviziune; iar dezoxi ATP conduce la inhibarea sintezei acizilor nucleici. Ca urmare sunt reduse în principal timocitele și limfocitele T, lipsesc răspunsurile proliferative T și B.

Deficitul imun se însoțește de anomalii scheletice: coaste scurte, concave, oase iliace slab dezvoltate, aspect particular al omoplatului, ischionului și metafizelor oaselor lungi.

Copii heterozigoți cu activitate ADA de 50% nu prezintă deficit imun (1, 2).

Enzima fiind prezentă și în alte tipuri celulare, fibroblaștii amniotici și hematiile sunt substratele obișnuite de testare a activității ADA pentru diagnosticul timpuriu.

4) **SCID cu limfocite B și imunoglobuline,** descris de Nezelov, se manifestă la băieți, transmiterea ereditară fiind legată de cromozomul X.

Bolnavii au timus embrionar, absența limfocitelor T și a reacțiilor imune mediate celular. Limfocitele B sunt în general prezente, produc cantități normale de IgM, dar valorile gamaglobulinelor variază de la normal la subnormal. Ca funcție, aceste imunoglobuline nu devin anticorpi sub stimul antigenic.

Defectul primar s-ar situa la nivelul progenitorilor T, la etapa înainte de rearanjarea genelor pentru lanţul β al TCR (receptor T). Acest deficit de maturare T implică şi factorii de diferenţiere (IL-6) care la normal induc schimbarea izotipică a sintezei de imunoglobuline în limfocitul B.

5) **Sindromul limfocitelor „despuiate"** („dénudés"-SLD) denumire ce indică lipsa de expresie a moleculelor codificate de genele CMH (complexul major de histocompatibilitate) de pe suprafaţa leucocitelor. Teoretic se deosebesc două forme după deficitul moleculelor HLA I sau II. În realitate acestea pot fi intricate în diferite grade de deficienţă. Se descriu cazurile cu lipsa moleculelor HLA clasa II: DR, DQ, DP de pe membrana limfocitelor şi macrofagelor. Această absenţă împiedică legarea β_2-microglobulinei pe receptorii de recunoaştere. Prin urmare vor fi compromise procesele de prezentare a antigenului de recunoaştere, ca şi alte interrelaţii în cadrul răspunsului imun.

Forma de deficit imun care debutează timpuriu, variază ca severitate, putând realiza aspecte de SCID letal, spre vârsta de şapte luni (7,13). Datele de laborator pot fi variabile. În general, se constată monocite, limfocite T şi B cu aspect matur, dar care nu sunt funcţionale în răspunsul faţă de antigeni.

6) **Alte deficite imune mixte.** Se cunosc numeroase deficite ce cuprind atât imunitatea umorală cât şi pe cea mediată celular, care se asociază cu diferite alte anomalii (tabelul 6).

Tabelul 6

Sindroame de deficit imun asociate cu alte anomalii

Asociate cu anomalii cromozomiale
1) Sindrom Bloom
2) Boala Fanconi
3) Trisomia 21
4) Anomalii acrocentrice
Asociate cu anomalii viscerale
1) Hipoplazia cartilajului şi părului
2) Albinism parţial
Asociate cu anomalie metabolică
1) Deficit de Transcobalamin II
2) Deficit de Carboxilază biotin-dependentă
3) Oroacidurie tip I

B) SINDROAME DE DEFICIT ALE IMUNITĂŢII MEDIATE CELULAR

Când leziunea patologică cuprinde calea de maturare a liniei T, va fi afectată în mod prioritar capacitatea funcţională respectivă. Deficitul interesează funcţiile efectorii citotoxice şi de hipersensibilitate tardivă în

primul rând, iar într-un grad mai mic, funcțiile reglatorii care au acțiunile asupra limfocitelor B. Sunt foarte rare deficite parțiale ale limfocitelor T cu conservarea răspunsului anticorpic.

1) **Deficitul fosforilazei nucleosidelor purinice-PNP**. Rolul PNP în ciclul biochimic al purinelor constă în transformarea inosinei și dezoxiinosinei în hipoxantină (7). În absența acestei activități enzimatice, nivelul compușilor intermediari va crește, vor inhiba reductaza ribonucleotizilor, împiedicând astfel sinteza ADN. Defectul este evidențiat timpuriu în ontogenia liniei T prin lipsa rearanjării genelor lanțului β al TCR al progenitorii T, timici.

Sunt cunoscute un număr foarte mic de cazuri. Copii sunt subpondero-staturali, cu semne neurologice piramidale și extrapiramidale. Deficitul imun se manifestă după vârsta de un an, prin infecții severe, mai ales virale. Se asociază frecvent anemia hemolitică sau purpura trombocitopenică autoimună.

În sânge, se identifică alături de numărul redus de limfocite T nefuncționale, nivel normal de limfocite B și de imunoglobuline.

2) **Sindromul Di George sau hipoplazia timică.** În timpul gestației se produce o embriopatie plasată la nivelul pungilor faringiene 3 și 4, interesând organele derivate: timusul, paratiroidele aplazice sau hipoplazice, defecte cardiace și dezvoltarea redusă a mandibulei și urechilor. În formele severe, simptomatologia este dominată de semnele cardiace și de tetanie, realizând un prognostic grav. Sindromul parțial are șanse de vindecare (1, 7, 15).

Bolnavul prezintă imediat după naștere infecții repetate și grave virale sau micotice. Deficitul limfocitelor T este mai mult cantitativ, numărul limfocitelor T circulante este foarte mic, iar zonele timo-dependente din organele limfatice sunt hipocelulare. Limfocitele B sunt normale, iar concentrația serică a imunoglobulinelor poate fi normală sau scăzută.

3) **Deficite ale funcției limfocitelor T.** Recent s-au identificat cauzele unor deficite imune prin defecte de sinteză, sau de exprimare a unor citokine sau ale receptorilor respectivi de pe suprafața limfocitelor T (15).

3.1. LIPSA PRODUCERII DE IL-2

Citokină determinantă a activării limfocitelor T sub stimul antigenic. Se manifestă clinic ca deficit imun sever cu infecții multiple.

Mecanismul de la nivel molecular este încă neelucidat. În unele cazuri concomitent este și o lipsă a exprimării receptorilor R-IL-1 sau R-IL-2 de pe

membrana limfocitelor T. Deoarece nu a fost identificat un defect al genei ce codifică IL-2, se emite ipoteza unui defect de reglare al transcripţiei sau în procesul de cuplare a factorilor ce stimulează exprimarea receptorilor respectivi (6).

3.2. EXPRESIA DEFICITARĂ A COMPLEXULUI CD3-TCR.

Receptorul de recunoaştere a antigenului de pe limfocitele T. Anomalia a fost descrisă la indivizi aparent sănătoşi care în timp vor suferi de anemie hemolitică auto-imună (15).

4) DEFICITE PRINCIPALE ALE IMUNITĂŢII MEDIATE CELULAR ASOCIATE CU ALTE SIMPTOME

4.1. SINDROMUL WISKOTT-ALDRICH

Este o boală ereditară recesivă legată de cromozomul X, caracterizată printr-o triadă simptomatică:

- eczemă cronică atopică
- trombocitopenie cu trombocite mici
- infecţii repetate

Tabloul clinic este dominat de echimoze, diaree sanguinalentă, chiar accidente vasculare cerebrale, infecţii ale căilor respiratorii superioare. Se notează o frecvenţă crescută a septicemiilor. Bolnavii au nivel seric normale de IgG, nivel crescut de IgA, iar concentraţia de IgM se reduce progresiv. Cu timpul apar deficite ale funcţiei T. După vârsta de 20 de ani creşte riscul cu 16% pentru limfoame maligne.

Analiza fenotipică indică lipsa antigenului CD43 de pe limfocite şi trombocite, având ca urmare scurtarea duratei lor de viaţă (14). În ceea ce priveşte funcţia imună, se realizează un deficit al populaţiei limfocitare T de memorie imună cu toate consecinţele respective (15).

4.2. ATAXIA-TELEANGIECTAZIA

Se transmite ereditar recesiv autosomial. Boala se instalează progesiv după vârsta de 2–4 ani, cu simptome neurologice: ataxie cu atrofie cerebeloasă, urmată de neuropatie cu denervație musculară. Apoi se produc teleangiectazii pe conjunctive, urmând cele faciale care se întind pe umeri. Predomină infecțiile aparatului respirator, care se agravează cu vârsta. Uneori se asociază și boli auto-imune.

În sânge limfocitele T sunt reduse, nivelul seric al imunoglobulinelor este variabil și constată prezența α-fetoproteinei. Datorită defectului de reparare a ADN în urma radiațiilor, se produc numeroase rupturi cromozomiale urmate de remanieri, ce cuprind preferențial perechile: 1, 2, 7, 14, și 22. Aceasta explică incidența crescută de 8–10% a neoplaziilor mai ales limfoide (14). Se menționează dintre acestea leucemia acută limfoblastică T cu translocația ce cuprinde cromozomul 14 q_{11} (6). Până în prezent nu s-a găsit nici un tratament eficient.

4.3. CANDIDOZA MUCO-CUTANATĂ CRONICĂ

Boala debutează din copilărie cu infecții cu Candida albicans. Se constată numeroase leziuni pe mucoasele aparatului digestiv saû pulmonar, ca ducând furuncule.

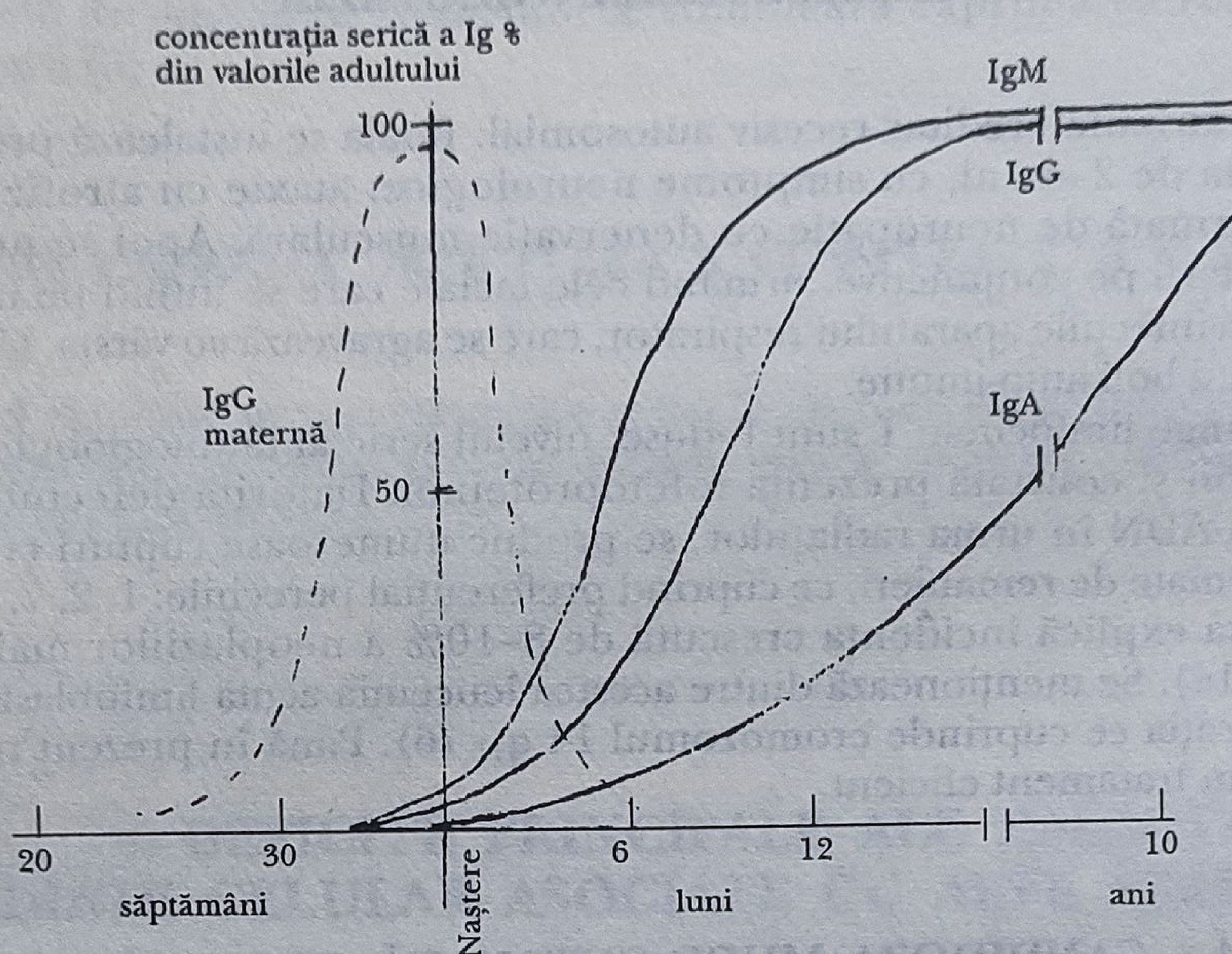
În circulație sunt prezente subpopulațiile limfocitare T și B normale cantitativ și funcțional. Defectul imunologic este selectiv interesând răspunsul imun specific față de Candida. Se identifică o subpopulație de limfocite Ts (supresoare) care ar explica parțial mecanismul patogenic. Nu s-a dovedit o transmitere ereditară, dar se menționează unele cazuri familiale. În unele cazuri sunt frecvente bolile endocrine: Addison, hipoparatiroidie, hipopituitarism.

C) SINDROAME DE DEFICIT AL IMUNITĂȚII UMORALE

Primul contact cu diferiți antigeni din mediul extern are loc după naștere, când copilul trece din mediul steril intra-uterin în cel extern unde se colonizează cu microfloră nepatogenă. În primele 3–4 luni după naștere, copilul este protejat de anticorpii IgG materni transmiși prin placentă și lapte. După șase luni, apărarea antiinfecțioasă este asigurată prin sinteza proprie de imunoglobuline, care se produce secvențial pentru diferitele izotipuri (schema 3).

Schema 3

Dezvoltarea izotipurilor de imunoglobuline în funcție de vârstă



Debutul deficitelor de anticorpi se manifestă numai după patru luni, posibil și mai târziu. Predomină infecțiile căilor respiratorii superioare cu evoluție spre pneumopatii (tabelul 7).

Tabelul 7

Frecvența infecțiilor în hipogamaglobulinemii

Localizarea infecțiilor	% cazuri	Complicații	% cazuri
Aparat respirator	91	pneumopatii	70
Aparat digestiv	21	enterocolite	19
Sistem nervos central	13	reumatism	12
Aparat urinar	5	boli hematologice	9
Sistem osos	5	meningită, encefalită	8
Cutanat	8	boli maligne	7

Elementele principale de diagnostic sunt: dozarea de imunoglobuline și studiul subpopulațiilor limfocitare. Cu ajutorul tehnicilor de genetică moleculară se poate preciza nivelul de blocare a maturării liniei limfocitare B.

I. HIPOGAMAGLOBULINEMII GLOBALE

1) Agamaglobulinemia legată de sex, sau boala lui Bruton

Boala este ereditară cu mod recesiv, legată de cromozomul X, de aceea se manifestă numai la băieți. Caracteristică este reducerea drastică a tuturor claselor de imunoglobuline ca și lipsa limfocitelor B și plasmocitelor din circulație și din organele limfatice. Analiza fenotipică identifică în măduva osoasă celule pre-B cu lanțuri μ intra-citoplasmatice, care sunt oprite în maturare înaintea rearanjării genelor V ale lanțurilor ușoare imunoglobulinice. Simptomele clinice reflectă această lipsă în anticorpi. Linia limfocitară T este normală, ca și răspunsul imun mediat celular.

Debutul are loc în primul an de viață cu infecții repetate otice, bronșice și digestive cu germeni piogeni (tabelul 7). Ele evoluează spre mastoidită, meningită, chiar septicemie. Cu vârsta ele se cronicizează, realizând sinuzite cronice, bronșiectazie, aspecte frecvent întâlnite în această boală. Se descriu trei complicații majore:

- Diareea cronică gravă cu Giardia sau Cryptosporidii, conduc la reducere ponderală, malabsorbție cu deficit imun secundar consecutiv.
- Artrite ale articulațiilor pumnului și genunchiului.
- Infecții neuro-meningee cu Echovirus rezistente la tratament.

Se descriu cazuri de poliomielită vaccinală.

2) **Hipogamaglobulinemia comună variabilă** (CVI commune variable immune deficiency). Situată pe locul II ca frecvență dintre deficitele imune primare specifice (1/100.000), poate interesa atât copii cât și adulții tineri, indiferent de sex. Se manifestă prin deficit de anticorpi, deci cu infecții, dar și prin boli auto-imune.

Numărul limfocitelor B circulante, ca și nivelul seric al imunoglobulinelor sunt variabile după caz, în general au valori subnormale. Limfocitele B nu se diferențiază în plasmocite, care sunt extrem de rare în organele limfatice. Cu vârsta se produc și deficite ale imunității mediate celular, cu reduceri numerice și funcționale ale limfocitelor T.

Se constată frecvente infecții cu germenii oportuniști ca pneumonii cu Pneumocystis carinii, zona zoster recidivantă și infecții digestive cu Giardia. Repetarea episoadelor infecțioase conduc la hiperplazii ale țesutului limfoid din arborele bronșic și din tubul digestiv cu producere de ileită, colită granulomatoasă. În unele cazuri cronice, secundar gastritei atrofice deci a lipsei factorului intrinsec, se produce anemia megaloblastică.

Frecvente sunt și manifestările auto-imune, poliartrita reumatoidă.

Analizând modul ei de producere, boala pare heterogenă. Astfel în unele cazuri deficitul imun pare a fi câștigat în urma unor infecții virale ca Hepatita B, virus Epstein Barr sau rubeolă congenitală. În alte cazuri se

notează o incidenţă familială crescută de deficite imune ca cel de IgA, sau o sensibilitate crescută a băieţilor de a se infecta cu virus Epstein Barr (14).

După rezultatelor testelor de laborator, ar exista mai multe modalităţi de blocare a maturării limfocitelor B (schema 4);

1. – dezvoltarea anormală a diversităţii clonale a limfocitelor B lipsite de sIg deci cu defect intrinsec;

2. – prezenţa delimfocite B ce exprimă pe membrană diverse clase de imunoglobuline, dar nu răspund la activatori policlonali, deci defect de reglare T_H.

3. – limfocitele B sunt mature, sintetizează imunoglobuline, dar nu le secretă având defect de glicosilare intra-citoplasmatic;

4. – limfocitele B secretă imunoglobuline numai in vitro, nu şi în vivo, deci prezenţa de factori inhibitori în circulaţie;

5. – activitate supresoare crescută;

6. – prezenţa de anticorpi anti-limfocitari;

3) **Sindromul cu hiper IgM şi hipogamaglobulinemie legată de sex.** Limfocitele B produc numai anticorpi de tip IgM cu activitate restrânsă faţă de microorganisme. Astfel copilul suferă de infecţii bacteriene repetate, mai ales la nivel pulmonar. Se subliniază frecvenţa sindroamelor, auto-imune ca: anemii hemolitice, neutropenii trombocitopenii, de asemeni o incidenţă crescută de limfoame maligne. Este o boală cu transmisie ereditară cu defect pe cromozomul X. Mecanismul de producere pare a interesa schimbarea izotipică a sintezei imunoglobulinelor de la IgM la alte clase. Valorile crescute constante ale IgM se explică şi prin infecţiile repetate mai ales cu virus Epstein Barr ce reprezintă o stimulare continuă pentru limfocitele B.

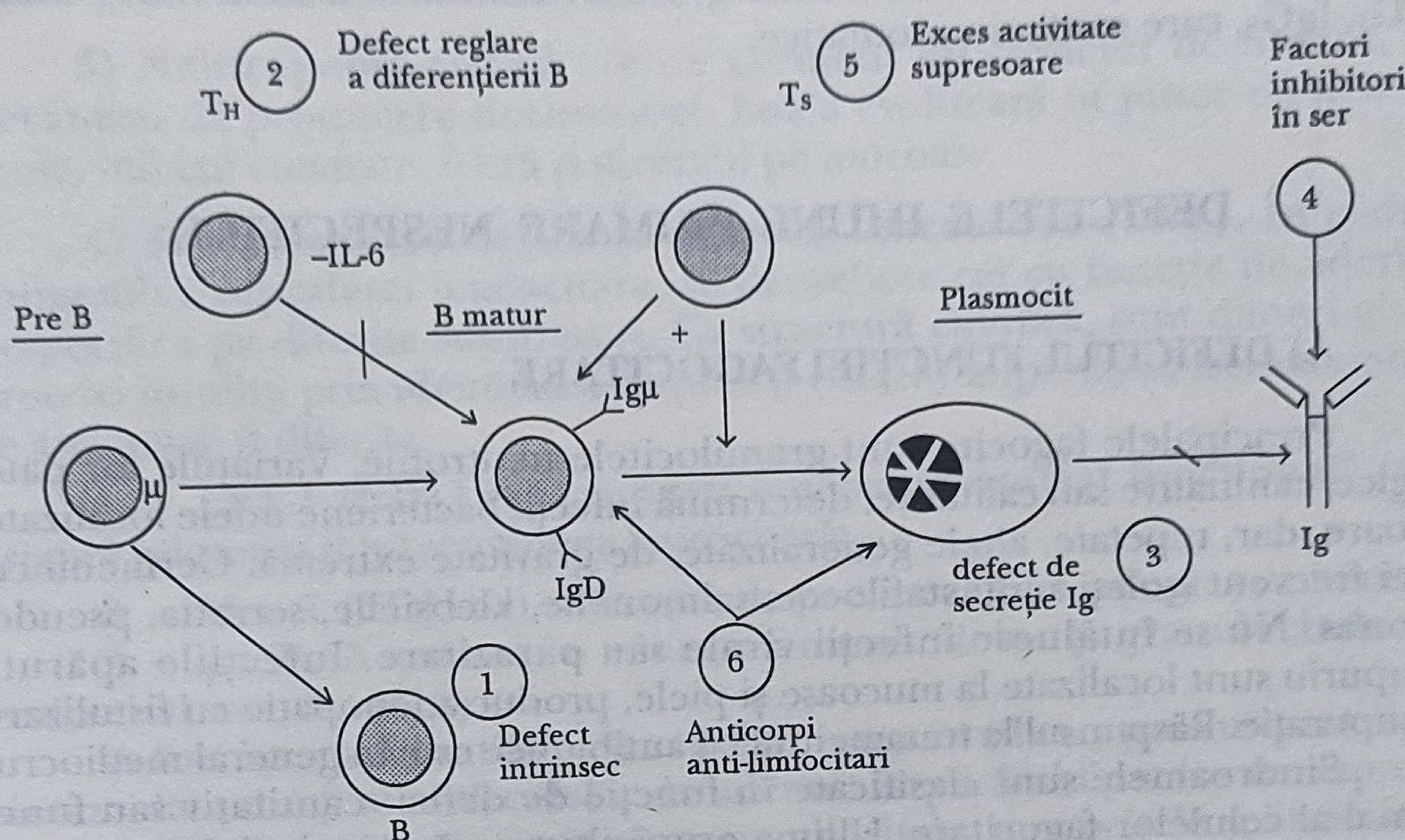
4) **Hipogamaglobulinemie cu timom.** Timonul, tumoră benignă cu celule fuziforme se asociază cu o serie de sindroame, printre care cam 10% din cazuri au şi hipogamaglobulinemie. Nivelul seric al IgM şi IgG este scăzut, dar concentraţia IgA este normală. În sânge se găsesc numai limfocite B^{sIgA} pozitive. Din măduva osoasă lipsesc precursorii limfocitelor B, posibil în urma unor reacţii auto-imune produse de celulele tumorale ale timonului. Boala se vindecă după ablaţia tumorii (7).

5) **Hipogamaglobulinemia pasageră a primei copilării.** Perioada în jur de şase luni este critică prin reducerea anticorpilor IgG materni şi începutul sintezei celor proprii. Dacă această producere este insuficientă, sau întârziată, copilul va prezenta o sensibilitate crescută la infecţii respiratorii repetate. Examenul sanguin arată subpopulaţii limfocitare T şi B normale, ca şi valorile serice ale IgM. Copilul se dezvoltă normal, iar după 12 luni anomalia se corectează fără a necesita tratament. Foarte rar se întâlnesc accidente postvaccinale antipoliomielită.

Boala este favorizată de prematuritate, sau de infecţii perinatale.

Schema 4

Posibile mecanisme de producere a deficitului imun comun variabil



II HIPOGAMAGLOBULINEMII SELECTIVE ALE CLASELOR DE Ig.

1) **Deficit selectiv de IgA.** Este cel mai frecvent deficit imun primar, cu o medie de 1/700 din populația generală (7, 1). Cam jumătate din cazuri sunt aparent sănătoși. În cazul bolii manifeste, debutul poate fi în copilărie sau la vârsta adultă, cu infecții otice, respiratorii sau digestive repetate. Acești bolnavi au predispoziție pentru boli alergice: rinită de fân, astm bronșic, intoleranță la gluten sau la lapte de vacă, concomitent cu nivel crescut de IgE. Se constată frecvent asocieri și cu boli auto-imune lupus eritematos diseminat, poliartrită, reumatoidă, tiroidită, boală cooliacă, diabet, anemie hemolitică auto-imună.

Nivelul seric al IgA ca și a componentei secretorii sunt nedecelabile. Se explică prin defect reglator al schimbării izotipice privind numai clasa IgA. În unele cazuri mecanismul patogenic poate fi mai complex, deoarece se notează evoluții spre hipogamaglobulinemii globale.

Tratamentul tipic de înlocuire cu imunoglobuline are riscul de a produce allo-imunizare cu anticorpi anti-IgA.

2) **Deficite selective ale subclaselor de IgG.** Diferiți antigeni induc producere de anticorpi limitați la anumite subclase de imunoglobuline. Se știe că IgG_2 componentă minoră a IgG serică, are o activitate puternică față

de polizaharizi bacterieni. Astfel deficitul de IgG_2 asociat sau nu cu deficit de IgA și de IgG_4 produce un sindrom cu infecții repetate ale căilor respiratorii superioare, care pot lua forme foarte grave. Se cunosc deficitele altor subclase IgG_1, IgG_3, care sunt asimptomatice.

DEFICITELE IMUNE PRIMARE NESPECIFICE

A) DEFICITUL FUNCȚIEI FAGOCITARE

Principalele fagocite sunt granulocitele neutrofile. Variațiile lor patologice, cantitative sau calitative, determină infecții bacteriene unele localizate, ușoare, dar, repetate, altele generalizate, de gravitate extremă. Germenii cel mai frecvent izolați sunt: stafilococ, salmonelle, klebsielle, serratia, pseudomonas. Nu se întâlnesc infecții virale sau parazitare. Infecțiile apărute timpuriu sunt localizate la mucoase și piele, produc adenopatie cu fistulizare și supurație. Răspunsul la tratamentul cu antibiotice este în general mediocru.

Sindroamele sunt clasificate în funcție de deficit cantitativ sau funcțional al celulelor fagocitare. Ultima grupă ilustrează principalele etape ale procesului de fagocitoză (tabelul 8).

Tabelul 8

Clasificarea deficitelor imune primare nespecifice ale funcției fagocitare

	Denumire	Ereditate
I Cantitative	1) Agranulocitoza infantilă genetică	R.A.
	2.) Neutropenia severă familială	D.A.
	3.) Neutropenia ciclică	D.A.
II. Funcționale		
aderare	1) Deficitul aderării leucocitare	
chimiotactism	2) Sindromul leucocitului „leneș”	
putere bactericidă	+ sindroame Job și Bucklei	
defect lizozom	3) Boala granulomatoasă cronică	R.X.
chimiotactism	4) Sindromul Chediak–Higashi	R.A.

R=recesiv; D=dominant; A=autosomial; X=cromozomul X.

1) **Agranulocitoza infantilă genetică,** denumită și boala lui Kostmann, se transmite cu mod recesiv autosomal. Datorită unei blocări la nivelul celulelor medulare precursoare, promielocite, mielocite, etapa de granulocit matur este foarte redusă cantitativ. Ele au funcții normale, dar insuficiente față de solicitări. Infecțiile ce apar în primul an de viață sunt letale.

2) **Neutropenia severă familială**, este transmisă ereditar în mod dominant. Se manifestă imediat după naștere cu infecții bacteriene. În sânge lipsesc granulocitele neutrofile, dar au monocitoză.

3) **Neutropenia ciclică** are de asemeni un caracter dominant, cu mecanism de producere necunoscut. Boala evoluează în pusee cu neutropenie, infecții cutanate, febră și ulcerații pe mucoase.

4) **Sindroame de deficit al aderării leucocitare (DAL).** În cadrul antigenilor suprafeței leucocitare, se deosebesc cei cu funcție de aderare nespecifică pe diferite substraturi. Ca structură chimică, sunt dimeri glicoproteici înrudiți prin identitatea lanțului β (CD18) împărțiți în trei subunități ce au lanțuri α diferite:

1. – LFA-1 (CD11a+) „antigen leucocitar asociat funcțional" care asigură migrarea și interacțiunea leucocitară;

2. – Mac–1 (CD11b+) se fixează de porțiunea C_3 a complementului;

3. – p150.95 are rol în aderarea monocitelor și granulocitelor la endoteliul vascular (6, 7).

A fost recent identificat un deficit imun ereditar, produs prin lipsa sintezei lanțului β al moleculelor de aderare implicând lipsa lor de expresie pe suprafața leucocitară. Ca urmare granulocitele, monocitele și limfocitele nu mai au posibilitatea de aderare la substraturi, nici de mobilizare spre focarele de infecție. În mod similar, deficitul cuprinde și funcția citotoxică limfocitară. Simptomul tipic este abcesul peri-ombilical apurulent, cu vindecare tardivă. Se poate extinde în țesutul subcutanat producând ulcerații. Boala poate fi gravă datorită infecțiilor necrotice ca: stomatite, entero-colite, abcese perirectale, pneumonii, cu toate că în sînge granulocitele neutrofile sunt în număr crescut.

5) **Sindromul leucocitului „leneș".** Se descriu un număr foarte mic de cazuri cu afectarea unei singure activități funcționale a neutrofilelor: chimiotactismul. Restul funcțiilor granulocitare sunt normale. Deficitul se măsoară în vitro prin testele de mobilitate. Copii prezintă abcese cu stafilococ. În același context se grupează sindroamele ce au în plus și eczemă și valori crescute de IgE descrise de Job și Buckley. (4, 7).

6) **Boala granulocitoasă cronică** (CGD=chronic granulomatous disease). Este un grup de sindroame produse prin defectul de omorâre a bacteriilor fagocitare, care proliferează intra-celular, apoi invadează organismul.

În primele două luni copilul face infecții severe cutanate cu bacterii catalazo-pozitive: stafilococ, bacili Gram negativi, sau cu Aspergillus. Acestea evoluează cu adenopatie abcedată, fistulizare. Infecția se diseminează producând abcese cronice multiple cu formare de granuloame cu celule gigante, localizate de obicei la nivelul oaselor, ficatului, tubului digestiv sau pulmonar.

Boala este ereditară recesivă, la unele cazuri legată de cromozomul X, în altele este autosomală. În primul grup s-au identificat pe cromozomul Xp21 gene ce codifică subunități ale citocromului b. Acestea sunt deletate sau au mutații, nerealizându-se sinteza citocromului b. În cazurile cu transmisie autosomală lipsesc factorii citosolici cu rol în activarea oxidazei. Deci în ambele cazuri rezultă un deficit biochimic în generarea H_2O_2, etapă inerentă a reacției oxidative de liză a bacteriilor catalazo-pozitive. În sânge granulocitele neutrofile normale numeric, au restul funcțiilor nemodificate. De asemeni sunt normale și reacțiile imune umorale și cele mediate celular. Diagnosticul, se precizează cu ajutorul testului NBT (nitro-blautetrazolium) care este negativ, nevirând culoarea din galben în albastru. Cu ajutorul lui se poate stabili diagnosticul pre-natal prin puncție amniotică ca și depistarea femeilor heterozigote, purtătoare sănătoase (1).

7) **Sindromul Chediak-Higashi.** Este o boală foarte rară cu transmitere ereditară recesivă. Caracteristice sunt modificările morfologice ale granulocitelor, limfocitelor B, celulelor NK, ce prezintă în citoplasmă granulații mari asemănătoare incluziilor. Granule de dimensiuni exagerate se găsesc în celulele și a altor țesuturi: fibroblasti, endotelii, țesut nervos, tubi renali, și în firul de păr. Conținutul granulelor este cel caracteristic celulei respective, defectul constă în structura peretelui lisosomial (2). Copiii prezintă albinism parțial oculo-cutanat, fotofobie, nistagmus și sensibilitate crescută la infecții bacteriene. Fagocitoza, producerea de H_2O_2 sunt normale, defectul constă în eliberarea enzimelor lizozomiale în fagosomi de asemeni și chimiotactismul este insuficient. Majoritatea copiilor decedează în urma infecțiilor. Cei care supraviețuiesc au adenopatie, hepato-splenomegalie, anemie, neutropenie și neutropatie. Terapia cu antibiotice citostatice sau splenectomia, rămâne ineficace. Vitamina C în doze mari ameliorează motilitatea granulocitelor.

B) DEFICITUL FACTORILOR DE COMPLEMENT

În anumite etape ale căilor de activare a complementului se produc numeroase procese biologice care au rol în răspunsul inflamator. Astfel activitatea bactericidă necesită activarea componentelor de la C_3 la C_9 pe ambele căi, clasică și alternă (2, 7). Depunerea fragmentelor C_3 pe microorganisme înlesnește procesul fagocitozei. Același component alături de C_1, C_2 și C_4 contribuie la neutralizarea virusurilor. Aderarea imună celulară pe complexele imune în procesul de clearance, este posibilă numai în activarea prin C_3 și C_4. Fragmentele C_{3a} și C_{5a} sunt chimiotactice, inițiază formarea exudatelor.

Deficitele genetice ale factorilor de complement se manifestă prin lipsa acțiunilor fiziologice respective. Afecțiunile sunt rare, fiind transmise în mod recesiv autosomal. Cea mai frecventă, deficitul inhibitorului C_{1q} este transmisă ca trăsătură dominantă.

Starea de heterozigot se identifică prin reducerea cu 50% a nivelului normal al complementului dozat ca putere hemolitică sau evaluat imunochimic. Adaosul componentelor de complement deficitare, normalizează funcțiile biologice și hemolitice respective.

1) **Deficitul inhibitorului C_{1q} sau edemul angio-neurotic ereditar.** Boala debutează la tineri sau la vârsta adultă prin crize repetate de edem cu durată de câteva ore la două zile. Edemul localizat subcutanat, este neinflamator, alb, fără prurit, nici urticarie. Gravitatea bolii constă în localizarea laringiană când produce obstrucție. La nivelul tubului digestiv produce crampe și diaree serioase. Crizele survin în urma traumelor fizice sau psihice (15). Ca mecanism patogenic, lipsa inhibitorului C_{1q} are ca rezultat o activare continuă a sistemelor proteice asupra cărora acționează în mod fiziologic, și anume: componentele C_{1q}, C_{1r}, C_1 factorul Hagemann, kallicreina, plasmina. Se generează astfel peptidele ce produc edemul.

Diagnosticul se precizează prin dozarea imuno-chimică a inhibitorului C_{1q} care scade la 20% din valoarea normală: Concomitent se reduc componentele C_2 și C_4 fiind scindate de C_1 activat; C_3 este normal. La 15% din bolnavi inhibitorul C_{1q} este cantitativ normal, dar are activitate redusă.

Tratamentul urmărește menținerea nivelului normal al inhibitorului:

– prin înlocuirea factorilor din plasma proaspătă; terapia are eficacitate mediocră și risc de propagare de infecții.

Creșterea sintezei inhibitorului se încearcă cu hormoni androgeni de tip Danazol. Reducerea utilizării factorului are rezultate bune cu acid tranexamic sau cu acid aminocaproic.

2) **Deficitele factorilor C_1, C_2, C_4** ale căii clasice pot fi asimptomatice sau se asociază cu boli cu complexe imune. Sunt frecvente: lupusul eritematos diseminat, glomerulonefrita, purpura auto-imună, poliartrite polimiozite (3). Aceste asocieri sunt sugerate de frecvența genotipurilor HLA-AlO, B18, DR2 cu posibilitatea de includere a unor gene ale răspunsului imun (2).

2) **Deficitul C_3** poate fi primitiv sau se realizează prin deficitul inhibitorului C_{3b}. Clinic se produce o sensibilitate crescută la infecții bacteriene repetate ca pneumonii, septicemii, meningite. Acestea pot fi la fel de grave ca infecțiile din deficitele umorale. Spre deosebire de acestea din urmă, în deficitele C_3 se produc anticorpi specifici dar nu au loc procesele de opsonizare și de fagocitoză.

Deficitele componentelor C_5–C_9 tardive compromit activitatea bactericidă. Predomină infecțiile cu Neisseria ca artrite, meningite, septicemii (1).

Deficitele căii alterne ale complementului se manifestă tot cu infecții preferențiale cu Neisseria, dar cu evoluție rapidă cum este purpura fulminans.

TRATAMENTUL DEFICITELOR IMUNE PRIMARE

MĂSURI DE PREVENIRE A PRODUCERII DEFICITULUI IMUN

Sfatul genetic este indicat mai ales în cazul familiilor cu factori de risc. În acest sens este necesară identificarea purtătorilor heterozigoţi posibilă în: deficitele enzimatice ADA, PNP, în transcobalamina II, şi în granulomatoza cronică legată de sex. Diagnosticul prenatal permite descoperirea anomaliei genice, fiind important pentru tratamentul profilactic sau curativ.

Măsuri generale de prevenire a infecţiilor şi complicaţiilor

Pentru prevenirea infecţiilor nu se recomandă antibiotice administrate preventiv, pentru a nu crea tulpini rezistente şi a nu favoriza infecţiile micotice (3, 7).

Pentru îngrijirea copilului imuno-deficitar trebuiesc asigurate condiţii stricte de igienă şi se recomandă alăptarea la sân ce adaugă IgG materne.

În cazul deficitelor imunităţii mediate celular, se evită transfuziile de sânge, sau dacă sunt absolut necesare, se prepară hematii oxigenate, iradiate. Pentru imunizarea activă nu se folosesc vaccinuri vii sau atenuate ci numai cu germeni omorâţi sau cu antigene proteice sau polizaharidice. Nu sunt contraindicate intervenţiile chirurgicale.

În infecţiile intestinale se institue regim fără zahăr sau gluten, se adaugă vitamine, minerale-fer, iar în cazurile grave se face hiperalimentare intra-venoasă. Concomitent antibioterapie cu doze mari, metronidazol.

Tratamentul deficitelor imune se bazează pe diagnosticul cât mai complet şi precis al afecţiunii pentru corectarea dereglării imune. Astfel în deficitele umorale tratamentul este mai ales de înlocuire a factorilor ce lipsesc, fără vindecare. În deficitele imunităţii mediate celular, se efectuează transplante de organe care în unele cazuri au efect curativ.

A) TRATAMENTUL SUBSTITUTIV

1) Înlocuirea imunoglobulinelor este tratamentul preventiv şi pe tot parcursul vieţii, în hipogamaglobulinemii. Din nenumăratele preparate se menţionează cele mai folosite. Preparate de imunoglobuline prin metoda tradiţională din amestec de plasmă, conţine toate clasele, cu predominenţa IgG, se injectează intra-muscular (7, 14). Se administrează în doză unică de 25 mg/kg corp pe săptămână sau de 400 mg/kg corp pe lună. Plasma proaspătă congelată, inoculată câte 10–15 ml/kg corp la 2 săptămâni asigură toate clasele de imunoglobuline, produce un efect rapid.

Imunoglobuline preparate prin fracționare etilică se administrează intra–venos după schema: primele 5 zile 50 mg/kg corp/zi apoi 25 mg/kg corp/zi până la creșterea nivelului seric la normal. Pot fi folosite și preparate de imunoglobuline hiperimune față de anumiți antigeni microbieni.

Administrarea imunoglobulinelor pe cale intra-musculară are dezavantaje. Pe lângă rezorbția întârziată cu dozare nesigură, se pot produce reacții prin activarea de către complement a agregatelor de imunoglobulină. Reacțiile pot fi locale, abcedare, sau generale, cu fenomene anafilactice. Pe calea intra–venoasă se evită aceste accidente, permite o dozare mai precisă a imunoglobulinelor introduse și au eficacitate mai mare. Plasma ca și preparatele clasice au riscul de a transmite hepatita virală și SIDA, care pot fi evitate prin tehnologia de purificare a Ig.

2) Înlocuirea enzimelor deficitare. Deoarece hematiile conțin cantități suficiente de ADA și PNP, au fost folosite iradiate și înghețate pentru tratarea deficitelor imune respective. Chiar dacă se reușește o ameliorare temporară a simptomelor, bolnavul rămâne limfopenic cu riscul infecțiilor (7). Administrarea de ADA bovină conjugată cu polietilenglicol ca stabilizator, corectează deficitul enzimatic, dar produce răspuns anticorpic anti–bovin.

3) Extractele celulare. În deficitele imunității mediate celular, pentru a se evita producerea reacției grefă contra gazdă (GVH) în urma transplantelor, s-a încercat inocularea unor factori cu funcții în maturarea limfocitelor T sau în răspunsul imun. Factorii timici purificați: timosin, TNF, n-au avut rezultatele scontate și au fost abandonați.

Factorii de transfer ameliorează simptomele clinice și funcțiile limfocitare în unele cazuri cu sindrom Wiskott-Aldrich ca și în Candidoza muco-cutanată cronică. Unele cazuri cu deficit de Transcobalamin II au beneficiat parțial de terapia cu vitamina B12.

B) GREFAREA DE ȚESUTURI IMUNOCOMPETENTE

Grefele sunt indicate numai în cazurile severe ca SCID, aplazia timică, sindromul Wiskott-Aldrich. Dacă pot fi depășite cele două mari accidente: respingerea grefei și reacția grefă contra gazdă (GVH), grefarea reprezintă tratamentul curativ.

Pentru fiecare tip de deficit imun celular se alege țesutul corespunzător pentru grefare. În majoritatea cazurilor se face transplantul de măduvă osoasă, sursă de celule stem și progenitoare pentru toate seriile. În aplazia timică se grefează timus fetal prelevat până în a zecea săptămână de gestație, ca sursă de epiteliu timic. Pentru evitarea celor două complicații nedorite, în grefa de măduvă, este importantă alegerea donatorului. Situația optimă ar fi un frate sau soră cu identitatea HLA și lipsă de reacție în cultura mixtă limfocitară. Fiind foarte greu de găsit, se încearcă alte posibilități. Se alege un părinte sau o rudă cu semi identitate HLA. În acest caz, limfocitele T ale donatorului pot

ataca celulele primitorului purtătoare de antigeni de histocompatibilitate diferiți și produc GVH. Aceste limfocite T trebuiesc eliminate din explantul de măduvă osoasă prin una din cele două metode clasice:

1) reacție cu anticorpi monoclonali anti-T apoi liză mediată de complement;

2) rotezarea E urmată de izolarea lor.

S-au încercat pentru tratarea SCID transplante de ficat și timus fetale. Rezultatele sunt mediocre deoarece grefa prinde greu și lent, perioadă în care se pot produce infecții.

Altă metodă constă în folosirea țesutului timic de copil, prelevat prin chirurgie cardiacă, apoi cultivat in vitro câteva săptămâni până la depletarea de limfocite.

Pregătirea bolnavului în vederea transplantării are două aspecte:

– asigurarea măsurilor stricte de igienă corporală, alimentară, a mediului, antibiotice și antimucotice;

– testarea potrivirii primitorului cu donatorul privind sistemul ABO, MHC și allotipuri Ig.

Măduva osoasă se administrează intra-venos sau intra-peritoneal la sugari în cantitate de 10^8–10^9 celule nucleate/kg corp.

Prinderea grefei este dovedită de chimerism prin markeri cromozomiali, enzimatici și antigenici HLA. Evitarea reacției GVH se asigură în perioada post grefare cu diferite mijloace terapeutice.

În grefarea HLA identică supraviețuirea este de 70%, iar în cea semi-identică, de 50%. După 2–3 săptămâni, funcțiile imune sunt preluate de limfocitele donatorului. Rezultatele grefei timice în aplazia timică sunt mai precoce și conduc la normalizarea durabilă a funcțiilor limfocitelor T proprii.

C) TRATAMENTUL IMUNO-MODULATOR

În formele de deficit imun comun variabil cu activitate supresoare crescută, tratamentul imunosupresor duce la creșterea nivelului seric al imunoglobulinelor (1). Una din perspectivele tratamentului imunomodulator este sinteza de peptide adesiotrope analoage modelelor receptorilor limfocitari. Administrarea de G-CSF (factor stimulator al coloniilor granulocitare) a dat rezultate bune în agranulocitoză și în neutropenia ciclică. Se încearcă tratament cu IFNγ în boala granulomatoasă cronică, deocamdată rezultatele sunt mediocre.

D) TERAPIA GENICĂ

Se bazează pe inserarea de gene înlocuitoare celor defectuoase, în celulele stem, prin mediere retro-virală. Tehnologia perfecționată este un deziderat pentru tratarea deficitelor imune cu defecte genice.

DEFICITELE IMUNE SECUNDARE

Frecvenţa mare a acestui tip de deficit imun impune investigarea imunităţii în majoritatea bolilor. În afară de unele cazuri, ele sunt mai puţin severe decât deficitele imune congenitale. Faţă de acestea din urmă deficitele secundare diferă şi sub alte aspecte. Astfel ele sunt globale, interesând atât componenta umorală, cât şi pe cea celulară a răspunsului imun. Dependenţa lor faţă de factorii cauzali este evidentă, prin posibilitatea de vindecare o dată cu îndepărtarea afecţiunii primitive. Însă producerea unui deficit imun în cadrul unei boli reprezintă un factor agravant, modificând simptomele şi evoluţia respectivă.

Deficitele imune secundare pot fi produse de cauze multiple şi diferite. Dacă în cazul deficitelor imune primare, mecanismele patogenice pot fi schematizate prin defecte situate la anumite niveluri ale răspunsului imun, în deficitele imune secundare cauzele pot interesa şi alţi factori de ordin general, ce condiţionează statusul imun. Astfel se ştie că exprimarea funcţiilor imune este dependentă de sinteza proteică ca suport material al efectorilor imunităţii. Aceasta este condiţionată la rândul său de starea metabolică a

Tabelul 9

Clasificarea deficitelor imune secundare

Sinteză proteică redusă

I) Subnutriţia infantilă
II) Bolile infecţioase
1) bacteriene
2) parazitare
3) virale: SIDA
III) Bolile maligne
IV) Medicamente

Pierderi proteice, catabolism accelerat

I) Diferite tulburări viscerale
1) Insuficienţa renală
2) Sindromul nefrotic
3) Insuficienţa hepatică
4) Bolile gastro-intestinale
II) Arsuri
III) Boli metabolice: Diabetul zaharat
IV) Boli neuro-endocrine: Sindromul Cushing

Alte mecanisme

I) Boli auto-imune: Lupus Eritematos Diseminat
II) Actul chirurgical
III) Splenectomia
IV) Senilitatea

organismului, ca şi de aportul sau pierderile de proteine. Clasificarea patogenică a deficitelor imune secundare se raportează în primul rând la scăderea raportului anabolism/catabilism proteic, ţinând cont că în fiecare caz intervin şi alţi factori (tabelul 9).

SUBNUTRIŢIA INFANTILĂ

O mare parte din populaţia anumitor zone geografice suferă de foamete endemică, iar unele grupuri sociale, din orice zonă, au factori de risc datorită foametei pasagere. Cea mai afectată este vârsta copilăriei, la care deficitul imun se manifestă după înţărcare când regimul alimentar este lipsit de proteine şi de vitamine (3). În forma clinică medie, copilul este subponderal cu 60% sub nivelul greutăţii medii normale, iar creşterea este întârziată. Formele severe se manifestă clinic prin două aspecte:

1) kwashiorkor cu edeme şi ascită produse prin hipoalbuminemie;
2) marasm cu caşexie şi infecţii virotice grave, letale.

În aceste forme sunt frecvente infecţiile căilor respiratorii superioare, ale aparatului digestiv, cu evoluţie septicemică cu bacterii dar sunt şi parazitoze.

Imunitatea mediată celular este în primul rând afectată: reducerea numerică şi funcţională a limfocitelor T în urma atrofiei timice şi a depleţiei limfocitare din zonele T-dependente din organele limfatice. Se constată limfopenie şi anergie cutanată. Limfocitele B sunt normale, iar nivelul Ig şi producerea de anticorpi sunt variabile. Se notează creşteri de IgM, IgA, iar IgE în raport cu parazitozele. Imunitatea nespecifică este puţin alterată, numai în formele severe scade puterea bactericidă. Datorită infecţiilor repetate, serul are activitate crescută anti complementară. Factorii serici cum sunt complexele imune libere, proteinele de fază acută, endotoxinele, contribuie la inhibarea funcţiei limfocitare. Astfel se accentuează starea de deficit imun carenţial, care la rândul său agravează nivelul denutriţiei. Afecţiunea este vindecabilă prin re-echilibrarea regimului alimentar, a condiţiilor igienico-sanitare de viaţă şi prin vaccinări anti-virale.

Starea de denutriţie poate fi întâlnită şi în afecţiunile care limitează aportul alimentar, contribuind şi cu alţi factori la producerea deficitului imun secundar (14).

BOLILE INFECŢIOASE

Inflamaţia din cadrul bolilor infecţioase, a virozelor, infecţiilor micotice sau parazitare se însoţeşte frecvent şi de o denutriţie endogenă, indiferent de aportul alimentar (1). Mecanismul de producere al deficitului imun este

complex, determinat în mare parte de prezența infecției, de complexele imune circulante. Unele citokine reglatoare au rol cașectizant, cum este TNF_{α} (tumor necrosis factor), altele blochează răspunsul imun (corticoizi, proteina C reactivă). Chiar factorii etiologici respectivi pot contribui direct, epuizând funcțiile macrofagelor, sau secretând substanțe supresoare, factori limfocitotoxici (14).

1) **Infecțiile bacteriene.** Unele infecții au o puternică acțiune imunodepresivă. Se menționează anergia din lepră, tuberculoza miliară, sifilisul secundar. Testele cutanate, ca și răspunsul la mitogeni in vitro sunt deprimate.

Frecventele infecții herpetice produse în cursul pneumoniilor sau infecțiilor meningococice, indică imuno-deficit. Contribuie și defectul funcției bactericide.

Un aspect aparte este realizat de infecțiile apărute la bolnavii imunosupresați terapeutic. Infecțiile întâlnite sunt majoritatea cu germeni patogeni, dar o parte sunt datorate germenilor „oportuniști" ce folosesc ocazia terenului cu apărare redusă (3). Produc infecții severe: Pseudomonas aeruginosa, Cytomegalovirus, Candida, Aspergillus, Pneumocystis carinii, Varicella-zoster. Infecțiile cuprind aparatul respirator sau tubul digestiv. Cele mai frecvente sunt pneumopatiile atipice cu germen cauzal greu de identificat, și rezistente la terapie (14).

2) **Infecțiile parazitare:** protozoare sau helminți, se asociază cu deprimarea răspunsurilor imune. Se constată o sensibilitate crescută la infecții sau la tumori spontane sau induse viral, alături cu răspunsuri reduse față de parazit sau față de vaccinare.

3) **Infecțiile virale acute** se însoțesc cu anergie pasageră, favorizând producerea altor boli infecțioase ce pot lua forme severe. Persistența virusului în *infecțiile virale cronice,* cum este hepatita virală B, SIDA, determină deficit imun produs prin mecanisme patogenice complexe, neclarificate pe deplin.

Infecția cu virus HIV (human immuno-deficiency virus) este agentul etiologic al bolii SIDA (syndrome immuno-déficitaire aquis) caracterizată biologic prin lezarea subpopulației limfocitare T CD4+ și clinic prin evoluție cronică progresivă cu infecții „oportuniste" și producerea anumitor tipuri de tumori.

Epidemiologia și căile de transmitere ale virusului, încep să fie unanim recunoscute.

În prima etapă a infecției celulare, virusul se leagă prin glicoproteina GP120 de molecula CD4. Vor fi invadate în primul rând limfocitele T CD4+ dar și alte celule cu același antigen dar exprimat mai redus monocitele, macrofagii, sau alte celule prezentatoare de antigen din ganglioni limfatici, splină, pulmon, țesut nervos, piele. Ele constituie rezervorul de virus, ce poate fi diseminat în organism, când aceste celule sunt activate.

Etapa *latentă* a infecţiei corespunde stadiului intra-celular cu provirus integrat genomului sau ca ADN viral, fără ca celula să exprime antigenul viral, deci nu poate fi recunoscut de sistemul imun. Se menţine astfel un timp variabil cam de 6–7 ani (15). Cam 30% din cazuri rămân purtători asimptomatici.

Faza de *primo-infecţie* poate avea manifestări pseudo-gripale, semne neurologice, limfocitoză cu mononucleoză. Diagnosticul se precizează prin izolarea virusului din sânge sau prin detectarea antigenului viral P24 prin reacţia lanţului polimerazei (PCR) (8).

După o lună se produc anticorpi specifici depistaţi prin teste ELISA şi Western Blot. În acest stadiu *sero-pozitiv,* individul este contagios, dar *asimptomatic.* Limfocitele TCD4+ se reduc, au antigenemie P24+, hipergamaglobulinemie şi purpură trombocitopenică imună (1).

Etapa de *limfoadenopatie persistentă generalizată,* se însoţeşte de infiltrate limfoide şi în alte organe: zona ORL, tub digestiv, glande salivare, pulmon, măduva osoasă.

Tabelul 10

Infecţiile „oportuniste" în boala SIDA

A) *Majore*		
germen		leziune
Pneumocystis carinii	->	pneumonie interstiţială
Toxoplasmoza	->	abcese acute cerebrale
Cytomegalovirus	->	retinită, colită
Cryptococus	->	meningită
Mycobacterii atipice	->	febră persistentă
Cryptosporidium	->	diaree cronică cu malabsorbţie
Candida albicans	->	infecţii bucale şi esofagiene
B) *Minore:*		
Strongiloide sterc.	->	leziuni extra-intestinale
Isospora	->	leziuni digestive
Histoplasma	->	leziuni digestive
Virus herpetic	->	leziuni muco-cutanate extinse
Papovirus	->	leuco-encefalită multifocală

Boala se manifestă progresiv şi tipic prin *complexul simptoamelor legate de SIDA* apoi prin *SIDA* propriu-zis. Simptomele generale: febră, astenie, transpiraţii, diaree cronică, se asociază cu unele infecţii oportuniste minore cum sunt: candidoza bucală, zona zoster, leucoplazia linguală. Boala propriu-zisă are manifestări neurologice produse prin infecţie cu HIV:

neuropatie periferică, sau encefalită. Se adaugă un sindrom de cașexie progresivă. Ca urmare a deficitului imun se produc infecțiile „oportuniste" majore, (tabelul 10). În acest stadiu se produce sarcomul Kaposi, patognomonic infecției cu HIV, dar și alte limfoame maligne cu fenotip B (9). La baza acestor manifestări clinice se află deficitul imun profund. Reducerea drastică cantitativă și calitativă a limfocitelor T CD4+, influențează toate funcțiile efectorii: T, B, NK, monocitelor. Limfopenia se instalează progresiv. Modificările funcțiilor imune sunt prezentate în tabelul 11. Se subliniază răspunsul redus anticorpic, cu toate că se secretă Ig în exces.

Tabelul 11

Teste funcționale limfocitare în infecția cu HIV

Funcția T	Stadiu asimptomatic	Stadiu simptomatic
Limfocite CD4+/mm^3	>400	<400
Teste cutanate hipersensibilitate	n	–
Răspuns la mitogene	n, +	–
Răspuns la antigeni	–	–
Producere IL-2	–	–
Răspuns CTL autolog	–	–
Răspuns CTL heterolog	n	–
Test helper pentru B	n	–
Test supresor	n	+
Activitate NK	n	–
Funcția B		
Răspuns la mitogeni	–	–
Răspuns la antigene	–	–
Producere spontană de Ig	+	+
Producere de anticorpi în răspuns imun I și II	–	–

Intensitatea deficitului imun se evaluează prin: numărul absolut al limfocitelor T CD4+, scăderea raportului CD4/CD8, testele cutanate de hipersensibilitate tardivă. Unele teste au valoare prognostică: creșterea β2-microglobulinei, a antigenemiei P24, scăderea răspunsului in vitro la PWM (pokeweed mitogen) sau la antigeni (5).

Anomaliile imune din infecția cu HIV sunt datorate unor mecanisme patogenice complexe, parțial cunoscute, ce pot fi grupate în trei aspecte:

1) Modul de „scăpare" a virusului HIV de reacțiile imune ale gazdei, fapt ce îi asigură perenitatea.

2) Mecanismele depleției limfocitelor T CD4+ (schema 5).

3) Modificările reglării imunologice și disfuncțiile celulare.

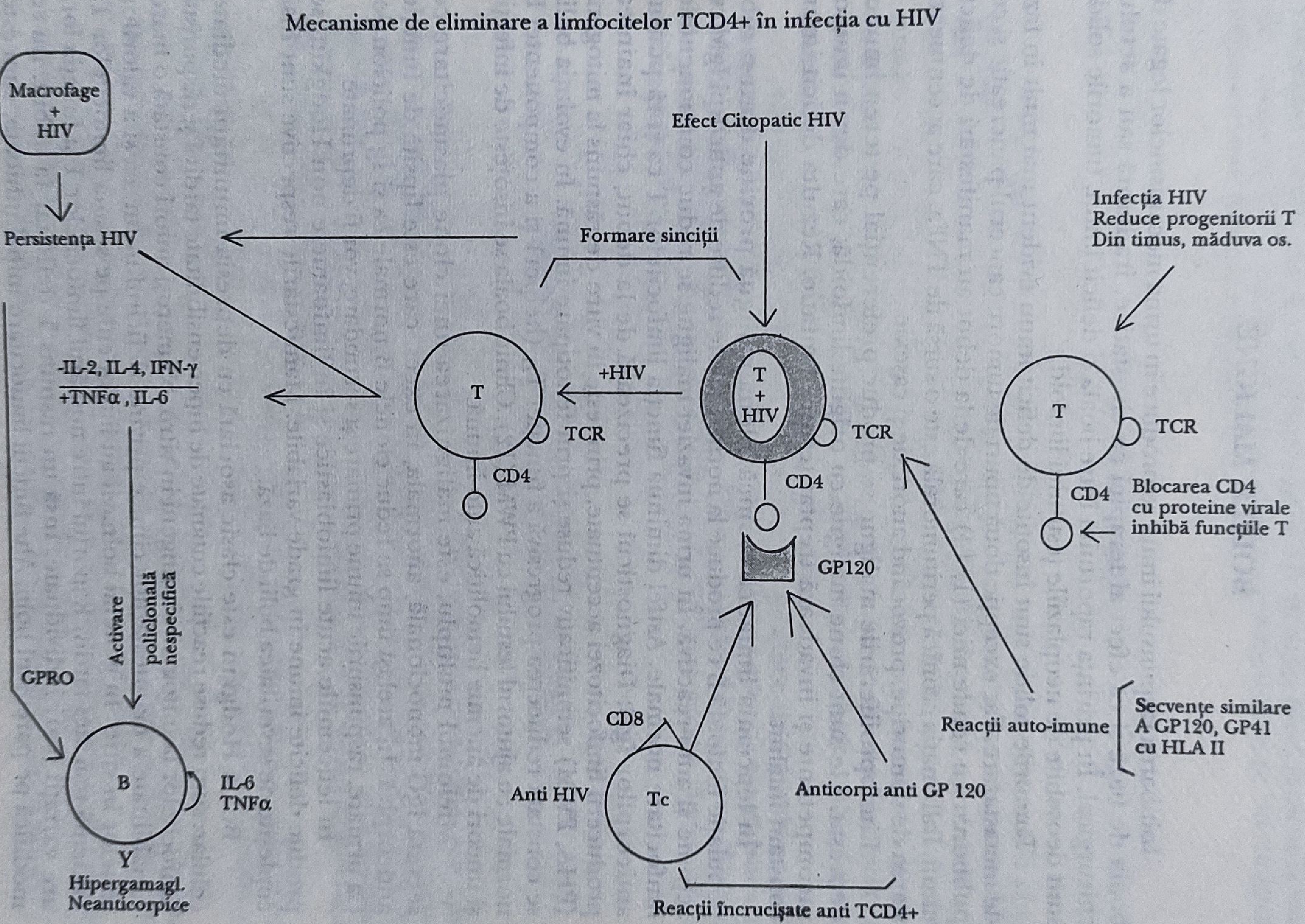
Caracteristica infecției HIV de a interesa un număr mare și diferit de celule, cu integrare intra-celulară o lungă perioadă de latență, asigură lipsa lui de recunoaștere de mecanismele supravegherii imune. Aspectul este accentuat și de acoperirea suprafeței glico-proteinelor virale printr-un complex glucidic care împiedică legarea lor de moleculele MHC în procesul „prezentării". Bucla V3 a GP120 care este expusă anticorpilor specifici neutralizanți, poate face frecvente mutații. Se produc într-adevăr anticorpi cu reactivitate lărgită, dar cu timpul se pierde și posibilitatea de recunoaștere la nivelul CTL (celule T citolitice) specifice (9).

Eliminarea limfocitelor T CD4+, cauza primară a deficitului imun, nu se explică numai prin efectul citopatic al virusului care se replică intra-celular, deoarece sunt depletate și limfocitele T neinfectate virotic. Un factor este reprezentat de infecția virală. Pe de o parte se extinde la timus și măduva osoasă distrugând progenitorii T, iar pe de alta se propagă prin formare de sinciții în care sunt cuprinse un număr mare de celule T CD4+ neinfectate. Proteinele virale inhibă expresia unor antigeni de pe suprafața limfocitelor T: CD4, CD28, ceea ce reduce răspunsul la antigeni; iar interacțiunea GP41 virală cu moleculele CD11a de pe celulele NK, produc disfuncția respectivă.

În primele etape ale infecției HIV, pe primul plan nu sunt aspectele de deficit, ci sunt hiperplazii limfoide, hiperactivități, hipergamaglobulinemie (5) și testele funcționale limfocitare pot avea valori normale în etapele inițiale ale infecției, reducându-se drastic în perioada bolii manifeste (Tabelul 11). Producerea acestor activități sunt în raport cu reacțiile auto-imune observate. La nivel molecular s-a constatat asemănarea unor porțiuni din molecula virală (GP120 și GP41) cu porțiuni din molecula HLA II. Se produc astfel reacții imune încrucișate sau reactivități imune similare cu reacția grefă contra gazdă (9). Anticorpii ca și CTL specifice față de GP120, vor cuprinde în reacție și molecula CD4+ de pe limfocitele infectate, lezându-le. Creșterea activității supresoare asupra funcțiilor T CD4+ se efectuează de limfocitele T CD8+ cu restricție MHC, iar alți factori inhibă liza efectuată de CTL. Supresia se menține continuă datorită persistenței virusului în macrofage, și în sinciții (9). Se produce o activare cronică și în alte sectoare ale sistemului imun. Limfocitele T secretă în mod normal citokine, factori de creștere sau supresori ce influențează diferitele interacțiuni celulare, ca și genomul viral. Limfocitele B sunt stimulate anormal, policlonal și nespecific exocrin și apocrin, produc în exces Ig ne-anticorpice. Excesul de IL-6 și TNFa sunt implicate și în patogenia sarcomului Kaposi.

Schema 5

Mecanisme de eliminare a limfocitelor TCD4+ în infecția cu HIV



BOLILE MALIGNE

Inhibarea răspunsului imun se produce în urma mecanismelor legate de boala de bază şi ca efect al terapiei cu citostatice, iradiantă sau a actului chirurgical. În privința raportului între boală şi deficit imun, tumorile solide sunt deosebite de neoplaziile țesutului limfoid.

Tumorile solide sunt însoțite de deficit imun evident mai mult în faza de metastazare. Fac excepție două tipuri de tumori: cancerul pancreatic şi cel pulmonar cu celule mici (1, 14) care de la debut au manifestări de deficit imun. Inflamația cronică peritumorală este o sursă de TNFa, care accentuează starea de denutriție, provocând anorexie şi cașexie.

Limfoproliferările maligne se produc preferențial pe teren imunodepresat. Ele sunt clone maligne cu origine limfoidă, care devin imunoincompetente şi invadează treptat țesutul limfatic. Rezultă deficit imun constant întâlnit.

În leucemia limfatică cronică, clona malignă provine dintr-o subpopulație limfoidă B ce produce la normal nivele reduse de anticorpi IgM cu acțiune şi auto-reactivă. În urma invaziei maligne se reduc componentele limfocitare normale. Astfel diminuă funcția limfocitelor T ca şi răspunsul anticorpilor IgG: Diagnosticul se precizează de la debut, chiar înaintea producerii limfocitozei accentuate, prin teste in vitro de răspuns la mitogeni (PHA, PWM) semnificativ reduse şi prin fenotipare imună. În evoluția bolii se constată reducerea progresivă a funcției T_H (helper) şi a componentei B normale cu ajutorul testului cu PWM (12). Clinic boala se însoțeşte de infecții şi uneori de anemie hemolitică auto-imună.

Mielomul multiplu, este malignizarea unei clone plasmocitare ce secretă IgG monoclonală, anormală, în exces, care este lipsită de funcție anticorpică. În acelaşi timp se reduc clonele B normale ca şi Ig policlonale. Ca urmare, răspunsurile imune primare şi secundare, vor fi deprimate.

În leucemiile acute limfoblastice şi în limfoamele non Hodgkin, se produc deficite imune în grade variabile. Manifestările respective sunt însă copleşite de severitatea bolii de bază.

Boala Hodgkin este clasic asociată cu depresia imunității mediate celular: sunt reduse reacțiile cutanate de hipersensibilitate tardivă şi răspunsul limfocitelor la mitogeni şi antigeni in vitro. Numeroşi autori constată o mare variabilitate a manifestărilor clinice privind deficitul imun, ca şi a valorilor testelor in vitro. În general bolnavii au limfopenie pe seama limfocitelor T, evidentă mai ales tardiv. Raportul între numărul limfocitelor T şi funcția lor, are variații mari individuale. Însă un răspuns T deficitar la debut, nu se modifică pe parcursul bolii. Alte funcții limfocitare inițial inhibate, cum este

răspunsul la PPD, au potențial reversibil după terapie, fiind crescut la etapa de remisiune (11). Mecanismul patogenic este neprecizat, se incriminează acțiunea unor factori supresori.

MEDICAMENTELE

Medicația imunosupresoare, aplicată în vederea transplantării sau în tratamentul bolilor maligne, influențează statusul imun în funcție de doză. Astfel CFA (Ciclofosfamida) în doză mare este limfopenică, iar dozele mici reduc limfocitele TS, rezultând imunostimulare (14). Tratamentul citostatic produce în general neutropenie, limfopenie, cu compromiterea tuturor funcțiilor imune, de aceea se aplică după programe verificate. Radioterapia peste anumită doză, în funcție și de sensibilitatea individuală, poate deprima imunitatea mediată celular, pe timp îndelungat.

Corticoterapia, mai puțin Aspirina, pot produce limfopenie cu reducerea funcțiilor limfocitelor (14). Se cunosc reacții adverse ale răspunsului imun, produse în urma administrării unor antibiotice fie prin efect citotoxic, fie prin efect supresiv al răspunsului imun (Gentamicina, Tetraciclina, Rifampicin, Cloramfenicol).

DIFERITE TULBURĂRI VISCERALE

1) Insuficiența renală: prin intermediul dereglării metabolice și a lipsei de eliminare a unor componente se acumulează în circulație anumiți factori serici, se produce acidoză, iar sistemul imun este deprimat global. Datorită anergiei respective, testele cutanate sunt negative, iar grefele sunt tolerate. Limfocitele T au funcții in vivo și in vitro deprimate prin defect intracelular. Se reduc și funcțiile fagocitare.

2) În sindromul nefrotic se produce o pierdere selectivă a moleculelor mici de IgG ducând la hipoproteinemie cu hipogamaglobulinemie cu consecințele respective.

3) În insuficiența hepatică, lipsind funcția de detoxifiere, germenii și antigenele absorbiți din intestin, pot induce reacții imune anormale. Sunt frecvente episoadele infecțioase în ciroză și în hepatita alcoolică.

4) Bolile gastro-intestinale ce conduc la pierderi proteice, se însoțesc deseori de limfopenie, de deficite imune umorale.

Aceleași mecanisme patogenice explică și riscul infecțiilor în arsuri.

BOLI METABOLICE

Diabetul zaharat se însoţeşte cu frecvente infecţii, abcese purulente. Disfuncţiile granulocitelor neutrofile ca: aderenţa, fagocitoza, puterea bactericidă, sunt în raport direct cu nivelul hiperglicemiei.

BOLILE AUTO-IMUNE

În urma dereglărilor complexe ale imunităţii, apărarea imună devine ineficientă. Se menţionează exemplul tipic al Lupusului Eritematos Diseminat, care se însoţeşte cu scăderea semnificativă a funcţiilor limfocitelor T, care variază în raport cu evoluţia bolii (1).

ALTE CAUZE

1) Actul chirurgical ca şi anestezia produc în primele ore un deficit acut cantitativ şi funcţional al limfocitelor T, mai puţin B, cu modificări proteice, scăderea Ig. După 7–10 zile, aceste modificări se atenuează treptat, iar funcţiile imune se normalizează după o lună (10). Această perioadă până la şapte zile după operaţii, are risc crescut de infecţii. Studierea parametrilor imuni cu aplicarea unei terapii adecvate, poate preveni complicaţiile infecţioase.

2) Splenectomia. Prin îndepărtarea organului principal limfoid şi de apărare antimicrobiană, creşte riscul infecţiilor mai ales cu germeni capsulaţi (pneumococ, Neisseria, Hemofilus), care uneori pot fi supra acute.

3) Senilitatea. Cu vârsta anumite funcţii imune pot fi în mod diferit deprimate. Limfocitele T au capacitate funcţională redusă, prin răspuns încetinit la IL-2 şi prin predominarea activităţii supresoare. În răspunsul imun primar, limfocitele B funcţionează mai lent cu intensitate redusă, dar răspunsul imun secundar rămâne normal. Diferitele anomalii imune apărute la vârstnici, nu reflectă atât îmbătrânirea organelor imune, cât însumarea factorilor patologici cronici. (1). Astfel sunt auto-anticorpi, disgamaglobulinemii, limfopenie etc. Starea de sănătate poate şterge diferenţele de vârstă.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ASSIM: *Association des Enseignants d'Immunologie des Universités de langue française.* MEDSI/Mc GRAW-WILL Publ. Co., 1990 p. 51.
2. BACH J.F., LESAVRE P., *Immunologie.* Méd. Sciences ed. Flammarion, Paris, 1989, p. 327.
3. CHAPEL H., HAENEY M., *Esential of Clinical Immunology,* Blackwell Scien. Publ., Oxford, London, Edinburgh., 1987, p. 37.
4. DIAS da SILVA W.: GÖTZE D., *Immunodeficiencies,* ed. Bier O. G. Dias da Silva, Gotze D., Mota I., *Fundamentals of Imunology,* Springer Verlag N.Y., Heidelberg, Berlin, 1981, p.339.
5. EDELMAN A.S., ZOLLA-PAZNER S., *AIDS: a syndrom of immune dysregulation, dysfunction and deficiency.* The FASEB Journal 1989, v. 3, nr. 24, p. 22.
6. FISCHER A., Primary Immunodeficiencies. Current Opinion in Immunology 1990 v. 2, p. 439.
7. HAYWARD A.R., *Syndrome d' immunodéficience congénitale* ed. Brostoff J., Scadding G. K., Male D., Roitt I. M., Immunologie Clinique. De Boeck Univ. Liége, 1991, p. 329.
8. HERSH E., *Immunodeficiency.,* in Manual of Clin. Labor. Immunol. Ed. Rose N. R., Friedman H., Fahey J.L., Amer. Soc. Microbiol. Washinghton 1986.
9. LEROY-VIARD K., *Immunologie.,* VII–ème Confer. Inter. sur le SIDA. Lettre de l'infectiologue, 1991, v. 6 nr.16 p. 561.
10. LITARCZEK G., TULBURE D., RADAN A., RAILEANU-MOTOIU I., FUNDUC I., DUMITRESCU A., *Modificări ale mecanismelor imunologice celulare și umorale în perioada postoperatorie.* Chirurgia 1989, v. 38, nr. 1, p. 69.
11. RAILEANU-MOTOIU I., DUMITRESCU A., COSTESCU M., MOCANU N., BERCEANU S., *Changes of the cellular imunity tests during the evolution of Hodgkin s disease.* Méd. Int. 1983 v. 21, nr. 3, p. 203.
12. RAILEANU-MOTOIU, DUMITRESCU A., *Phenotypic and functional changes in chronic lymphocytic leukemia.* Rev. Roum. Med. Int. 1993, v. 31, nr. 2, p. 99.
13. TOURAINE J.L., *Le Syndrome des Lymphocites Dénudés.,* Més. Sci. 1987 v. 3, nr. 5, p. 270.
14. World Health Organization Scientific Group, *Immunodeficiency,* World Health Org. Geneva 1978, p. 5.
15. WILLIAMS W.J., BEUTLER E., ERSLEV A.J., LICHTMAN M.A., *Hematology.,* Mc. Grow Hill Publ. Co. Ny, 1990 v. l, p. 967.

ACTUALITĂȚI ÎN IMUNOLOGIA ASTMULUI BRONȘIC

Conf. dr. MIRON BOGDAN

Clinica de Pneumoftiziologie
Spitalul Filaret
Universitatea de Medicină
și Farmacie
București

INTRODUCERE

Astmul bronşic (AB) reprezintă o entitate nosologică care a marcat o semnificativă remaniere de concepţie patogenică şi terapeutică în ultimii 7–8 ani. Aceste diferenţe sunt sesizabile în noua definiţie pe care a propus-o grupul expert ce a elaborat „Consensul privitor la etiopatogenia şi asistenţa astmului bronşic" (81) în 1991–1992. Definiţia este următoarea: „AB este un sindrom inflamator cronic al căilor aeriene care presupune implicarea a numeroase tipuri de celule în mecanismul patogenic, dintre care preponderente sunt mastocitele şi eosinofilele, provocând la indivizi susceptibili simptome legate de obstrucţia căilor aeriene, obstrucţie deseori reversibilă spontan sau sub tratament, în cadrul unei hiperreactivităţi bronşice la o multitudine de stimuli". Este de remarcat faptul că faţă de definiţia din 1961 a A.T.S, termenilor clinici de atunci li s-a preferat conceptul fiziopatologic de „inflamaţie cronică" produsă prin „implicare celulară multiplă", ceea ce subîntinde progresul de cunoaştere realizat în această perioadă. Acest progres plasează concepţia actuală privitoare la AB pe un teren în care elementele specifice de imunopatologie (celule specializate de tip imun, receptori de activare, citokine, mediatori, molecule de adeziune) devin pregnante. Trebuie subliniat faptul că cele mai pertinente progrese de cunoaştere s-au realizat în domeniul AB extrinsec (alergic, atopic) iar mecanismele de producere a inflamaţiei bronşice în AB intrinsec includ mult mai numeroase „pete albe" pe harta înţelegerii acestui tip clinic, foarte frecvent la adult.

Ceea ce merită de asemenea subliniat este faptul că evoluţia cunoaşterii mecanismelor patogenice a indus şi o modificare majoră în concepţia despre terapeutica a AB.

Actualul capitol încearcă să facă sinteza principalelor date actuale privitoare la mecanismele imunologice din patogenia AB (cu precădere repre-

zentat de AB extrinsec) subliniind mai ales achiziţiile de oarecare certitudine, acelea care permit imaginarea unei „teorii". Credem ca asemenea altor teorii, imaginea actuală este susceptibilă de a se transforma odată cu achiziţionarea în viitor de alte date. Utilitatea demersului nostru rezidă în calitatea de a ordona informaţiile foarte bogate ale ultimilor ani într-o imagine coerentă. Se va evita sistematic „detaliul" în favoarea unei dimensiuni integrative, chiar dacă actualmente suntem departe de a înţelege toate mecanismele patogenice ale AB. Selecţia şi interpretarea informaţiei este făcută de un clinician şi ea este astfel orientată încât să-l ajute în a practica o medicină mai eficientă şi mai raţională, acolo unde „empiricul eficient" poate fi servit de o erudiţie fecundă.

IMUNOPATOLOGIA ASTMULUI BRONŞIC

1. ASTMUL BRONŞIC (AB) BOALA INFLAMATORIE A BRONŞIILOR (ASPECTE MORFOPATOLOGICE)

Informaţiile morfopatologice privitoare la căile aeriene ale astmaticilor au fost culese în ultimele decenii prin: a) studii necroptice (postmortem) şi b) studii în vivo prin biopsii bronşice prelevate în cursul fibrobronhoscopiei.

1.1. **STUDIILE NECROPTICE** au fost efectuate asupra bolnaviilor decedaţi din cauza AB. Este caracterizată prezenţa plămânilor mari, destinşi, hiperinflaţi, cu mici zone circumscrise de atelectazie datorate dopurilor de mucus ce obstruează bronşii subsegmentare; leziunile emfizematoase sau dilataţiile bronşice sunt relativ rare (15–20%) (Ellis, 1906) (i). Dopurile de mucus sunt produse de secreţia hipervâscoasă, amestecată cu detritus celular abundent care mulează pereţii bronşici, şi cu numeroase granulaţii eozinofilice extracelulare (corpi birefringenţi). Mucoasa prezintă o îngroşare marcată prin edem, hiperoplazie glandulară, hipertrofie şi hiperplazie a musculaturii netede bronşice şi îngroşare a membranei bazale (2). Studii de imunohistochimie au demonstrat prezenţa de celule cu semne evidente de excitaţie celulară (degranulare avansată a mastocitelor şi eozinofilelor) precum şi de leziuni epiteliale întinse descuamative implicând agresiune multicelulară la

nivelul mucoasei (3). Datele necroptice au fost privite ca o situaţie „limită" din punct de vedere al morfopatologiei bolii, iar semnele de inflamaţie caracteristice pentru această condiţie ca o excepţie corespunzătoare evoluţiei sale letale.

1.2. **STUDIILE ÎN VIVO** au fost posibile relativ recent datorită introducerii fibrobronhoscopiei în studiul bolii astmatice (anii 1978–1980). Fibrobronhoscopia (Fbs) a reprezentat un pas decisiv în studiul astmului bronşic înlocuind bronhoscopia rigidă, mult mai traumatizantă şi mai periculoasă la aceşti bolnavi cu hiperreactivitate bronşică marcată şi risc de complicaţii acute. Este prudent în cazul cercetării clinice a se selecta cazuri uşoare („mild) de astm bronşic, stabile din punct de vedere clinic, cu VEMS>70% din valoarea teoretică şi cu hiperreactivitate bronşică moderată (PC20 cu metacolină>0,1mg/mL), şi a se aplica o premedicaţie cu bronhodilatatoare (betamimetice şi anticolinergice în nebulizare). În cursul examenului şi ulterior se poate produce un bronhospasm prelungit cu hipoxemie semnificativă. Metoda este bine să fie efectuată în servicii dotate cu posibilităţi de reanimare respiratorie (4, 5, 6). Informaţiile cele mai importante au fost furnizate prin practicarea în cursul Fbs a biopsiei endobronşice şi a lavajului bronhioalveolar.

1.2.1. **BIOPSIA ENDOBRONŞICĂ** (Bps) a fost practicată la bolnavi cu forme uşoare de astm bronşic, în stare de remisiune clinică şi crize rare (1–2/ săptămână), comparându-se leziunile lor cu aspectul rezultat din biopsiile prelevate de la oameni sănătoşi (7). În profida formelor clinice benigne se observă o descuamare epitelială severă, cu denudare a stratului celular bazal, celulele ciliate şi caliciforme dispărând deseori pe suprafeţe întinse. Gradul de descuamare epitelială este corelat cu severitatea hiperreactivităţii bronşice (8). Aceste modificări se găseau şi în afara crizelor de astm (7). Se poate pune în evidenţă un infiltrat inflamator intraepitelial constituit din macrofage, limfocite şi eozinofile. Această modificare determină dezgolirea terminaţiilor senzitive de la nivelul mucoasei bronşice (o explicaţie pentru exagerarea bronhoconstricţiei prin reflexe exagerate) şi contactul facilitat dintre pneumalergeni şi celule imunocompotente de la nivelul mucoasei.

La nivelul mucoasei se constată aceleaşi semne de activare a mastocitelor şi a eozinofilelor (1). La bolnavii tabagici sau cu astm bronşic de mulţi ani se găsesc şi polimorfonucleare neutrofile (9). Membrana bazală este îngroşată la aproape toţi bolnavii astmatici prin adăugarea de fibre de colagen şi depozite de proteine (2) formate din IgG, IgE şi fibronectină (10).

Datele furnizate de către Bps au permis evidenţierea modificărilor de tip inflamator de la nivelul peretelui bronşic şi au subliniat similitudinea acestor modificări cu cele prezente la cazurile decedate prin astm, chiar dacă biopsiile erau prelevate în fază de acalmie clinică. Aceste date au subliniat importanţa

inflamaţiei cronice în patogenia astmului bronşic şi au deschis calea cercetărilor actuale privitoare la implicaţiile celulare şi la mecanismele moleculare ale acestei inflamaţii.

1.2.2. **LAVAJUL BRONHOALVEOLAR** (LBA) efectuat cu lichid la temperatura de 37 grade a permis identificarea celulelor active în inflamaţia bronşică prezentă la bolnavii astmatici. Prelevarea acestor celule şi evaluarea lor din punct de vedere al receptorilor de activare precum şi analiza mediatoriilor şi a citokinelor din supernatant au permis completarea observaţiilor obţinute prin imunohistochimie de piese bioptice şi finalmente au contribuit la elaborarea concepţiei actuale privind patogenia astmului bronşic (11, 12, 13).

2. MECANISME CELULARE IMPLICATE ÎN PATOGENIA ASTMULUI BRONŞIC

Studiile bioptice practicate in vivo asupra bolnavilor cu astm bronşic au pus în evidenţă prezenţa unui infiltrat celular de tip inflamator bogat în limfocite, macrofage şi eozinofile. Dacă la aceste celule se adaugă mastocitele şi celulele epiteliale, mai demult cunoscute a fi implicate, obţinem lista celulelor considerate astăzi ca fiind intim implicate în patogenia astmului bronşic. Studiile de imunocitologie au permis evaluarea şi a celulelor circulante sanguine: limfocite, bazofile, polimorfonucleare, etc.

2.1. **MASTOCITELE** (MC) reprezintă celule recunoscute a fi implicate în reacţiile astmatice de tip precoce sau tardiv dar şi în geneza inflamaţiei cronice astmatice. MC se află situate perivascular şi în submucoasa structurilor cu rol de barieră faţă de mediul exterior organismului: piele, mucoasă bronşică, intestinală, etc. Se consideră că el face parte dintr-un sistem nespecific de apărare. Reprezintă celula cu cei mai numeroşi receptori pentru extremitatea Fc a IgE; alte celule ce posedă receptori Fc sunt macrofagele, bazofilele şi celulele epiteliale. De prezenţa IgE la suprafaţa lor se leagă capacitatea MC de a elibera mediatori în prezenţa unui stimul alergenic specific, condiţie ce caracterizează starea de atopie. Există o heterogenitate structurală, biochimică şi funcţională a MC, putându-se individualiza cel puţin 2 populaţii: prima aflată în mucoase (respiratorie şi digestivă) iar a doua în profunzimea peretelui intestinal şi în alte ţesuturi non epiteliale (14).

Diferenţele rezidă în componenţa granulelor în mediatori, triptază şi chimază. Deoarece MC sunt situate mai profund, sub epiteliul bronşic, ele apar în număr mic în compoziţia celulelor din LBA (sub 0,5%) (15). După stimulare cu alergen specific MC elimină mediatori conţinuţi în cele câteva sute de granule din citoplasmă. Acest mod de eliminare poate fi reprodus în vitro prin tratarea MC acoperite cu IgE cu AC anti IgE. Se elimină în cantitate proporţională cu intensitatea stimului: histamină, prostaglandină D2 (PGD2) şi leucotrienă C4 (LTC4). MC provenind de la bolnavii astmatici elimină cantităţi mai mari de mediatori decât cele provenite de la cei neastmatici (13). MC elimină mediatori şi atunci când sunt supuse acţiunii hiperosmolarităţii mediului lichidian ambiant (16). Prin însuşirile arătate MC reprezintă celulele implicate prin excelenţă în reacţia astmatică precoce dar ele au o influenţă şi asupra reacţiei tardive şi inflamaţiei cronice specifică bolii astmatice.

Medicamentele antiastmatice diminuă eliberarea în vitro de mediatori de către MC stimulate. Astfel cromoglicatul disodic (CGDS) dar şi nedocromilul inhibă degranularea mastocitelor (17). După 14 zile de tratament cu prednisolon MC recoltate prin LBA eliberează mai puţin de jumătate din cantitatea de histamină decât înainte de corticoterapie (18). Efecte similare, dar mai puţin exprimate, au şi teofilina şi betamimeticele de tipul salbutamolului (15). Stimulate specific prin intermediul IgE, MC produc şi eliberează citokine: TNF-alfa, GM-CSF, IFN-gamma, IL-1, 3.4. şi 5 precum şi activatori ai macrofagelor de tip MIP-1alfa şi MIP-1beta (19).

2.2. **MACROFAGELE** (Mf) aflate în căile respiratorii provin din monocite – Mf circulante. Ele au un rol complex: celule implicate în procesele de apărare (20), ele prezintă Atg prelucrate limfocitelor pe care în acelaşi timp le şi activează, prin aceasta contribuind la întreţinerea procesului inflamator (21). Pe suprafaţa Mf se află receptori pentru Atg de histocompatibilitate (MCH II, CD23), imunoglobuline (IgG, IgA, IgE), agonişti farmacologici (beta 2, adenozină), complement CD3', CD5'), citokine (TNF-alfa, IL-1), molecule de adeziune. În LBA al astmaticilor, Mf este cea mai frecventă celulă (până la 90%) (22). Există numeroase căi de activare a Mf, dintre care în AB cele mai importante sunt pe calea IgE (prezente pe suprafaţa Mf) şi prin produşi bacterieni sau citokine (19). Odată activate, Mf pot elibera factori proinflamatori, implicaţi în stimularea inflamaţiei locale precum: produşi ai acidului arahidonic(TxA2, LTB4), PAF, factori procoagulanţi, citokine (TNF-alfa, GM-CSF) (21)*. *Mf produc molecule polipeptidice cu Gm între 15 şi 30 kD care exercită asupra MC şi a bazofilelor o acţiune de eliberare de histamină din granulaţii (HRF-de la Histamine Realeasing moleculs). Această eliberare este dependentă de moleculele de IgE aflate la suprafaţa MC şi a bazofilelor (30). Creşterea nivelului de AMPc intracelular induce scăderea activităţii celulare (23, 24). De aceea medicamentele de tipul betamimeticelor şi a teofilinei au efectul de a reduce activitatea Mf. Acelaşi efect dar pe alte căi

îl au şi corticosteroizii (22). Pe suprafaţa Mf există molecule de adeziune implicate activ în procesele de inflamaţie cum ar fi: integrine (alfaMbeta2, alfaxbeta2, alfa4beta1) şi sialyl Lewis CD15 (25).

2.3. **LIMFOCITELE** (L) sunt celule imunocomponente prin excelenţă implicate în orice proces inflamator determinat de substanţe de natură antigenică, deoarece limfocitele însele sunt capabile de a recunoaşte specific aceste Atg. În plus L sunt dotate cu memorie imunologică. Prezenţa în număr mare de L în examenele morfopatologice postmortem ale bolnavilor astmatici a fost semnalată încă din 1960 de către Dunnil. Studiile bioptice prin fibrobronhoscopie au confirmat prezenţa în vivo de L în mucoasa bronşică chiar şi la astmatici cu forme uşoare din punct de vedere clinic (26). S-a putut evidenţia şi faptul că aceste L conţin la suprafaţa lor receptorul pentru IL-2 (IL-2R+), semn că ele sunt în stare activată (27). Utilizând aceiaşi Atc monoclonali anti IL-2R+ şi studiind L circulante şi din LBA s-a putut demonstra că la astmatici activarea L se produce in situ la nivelul bronhiilor şi nu în sângele periferic (12). Tipându-se L implicate în reacţiile de hipersensibilitate imediată (mediată prin IgE) s-a putut demonstra prezenţa aproape exclusivă în focar de L de tip T (LT) din categoria helper (CD4+) (28). S-a putut demonstra că aceste LT CD4+ sunt capabile de a induce in vitro sinteza de IgE specifice de către clone specializate de L de tip B (LB) şi că acest efect este mediat de IL-4 (29). Există un complex de citokine care favorizează producţia inadecvată de IgE faţă de un stimul antigenic, caracteristică atopiei. Acestea sunt: IL-3, IL-4, IL-5, şi GM-CSF. S-a dovedit că la nivelul genomului aceste gene se află situate pe locusuri apropiate, la nivelul ramurii lungi a cromozomului 5, ceea ce permite ca expresia lor fenotipică (producţia acestor citokine) să fie coordonată relativ solidar. S-a putut astfel evidenţia la şoarece două tipuri (clone) de LT CD4+ (helper): Th1 şi Th2 (31).

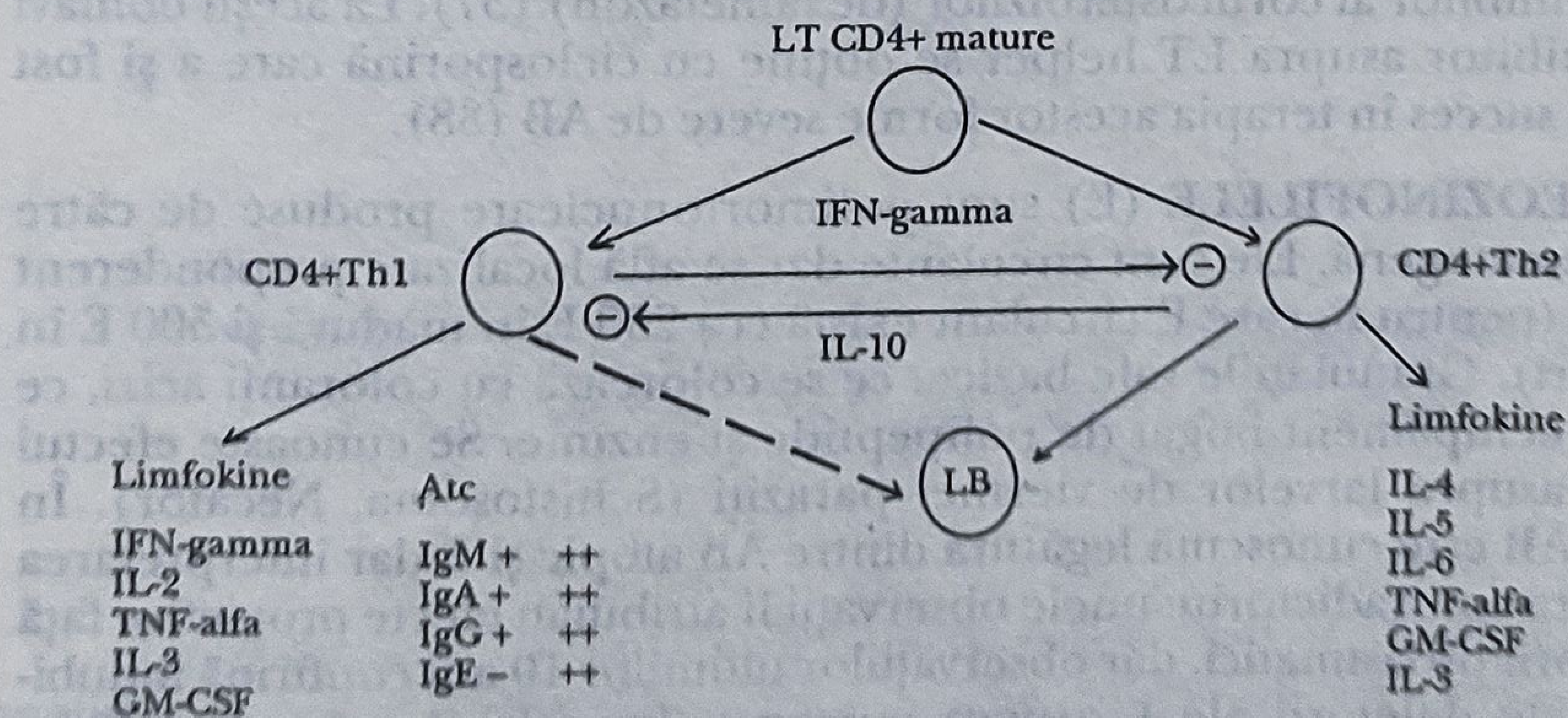


Fig. 4 Cele două tipuri funcţionale de LT CD4+: Th1 şi Th2 (explicaţii în text) (după 32).

În funcție de limfokinele produse LT CD4+ Th1 vor induce mai degrabă un răspuns de tip hipersensibilitate, întârziată, în timp ce LT CD4+ Th2 vor favoriza un răspuns de tip hipersensibilitate imediată. Acest din urmă răspuns este favorizat de secreția de IL-4 care stimulează LB ducând la răspuns imunoglobulinic, în care dacă o clonă de LB va secreta IgE vor apărea reaginele cu afinitate celulară (homocitotropism) declanșatoare la recontact antigenic al întregului lanț de răspunsuri (MC, Mf, celule epiteliale, etc), precum și de secreția de IL-5 și GM-CSF care accelerează abrupt producția și maturația de eonzifule care își vor putea exercita efectul specific local, condiționînd participarea eozinofilică caracteristică inflamației astmatice. Ambele tipuri de LT CD4+ au efecte inhibitorii reciproce (Th1 prin IFN-alfa iar Th2 prin IL-10). S-a demonstrat că în lichidul de LBA al astmaticilor LT CD4+ sunt predominent de tip Th2 (33). Acest fapt a fost dovedit punându-se în evidență ARNm pentru IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF și IFN-gamma prin hibridizare în situ cu ARN complementar marcat cu P32. Prezența de ARNm preponderent pentru IL-3, IL-4, IL-5 și GM-CSF indică indubitabil tipul Th2 preponderent al acestor LT CD4+. Evaluarea unui caz de sindrom hipereozinofilic aduce argumente că această configurație citokinică asigurând profilul CD4+ Th2 este transmisibilă genetic fie la nivel celular, determinând o dezvoltare clonală, fie este transmisă ereditar, tendința de a dezvolta reacții de hipersensibilitate imediată prin CD4+ Th2, IgE și eozinofile fiind moștenită (34, 35). Este o confirmare la nivel molecular-genetic a observațiilor vechi asupra eredității AB. Recent s-a demonstrat că tratamentul timp de 4 săptămâni cu beclometazon (un corticosteroid) pe cale inhalatorie, induce o reducere a activității limfocitare evaluate prin markeri limfocitari CD25 și HLA-DR în LBA (36). Astfel unul dintre mecanismele efectelor favorabile antiastmatice ale corticoterapiei este inhibarea LT activate din peretele bronșic, diminuând cantitățile de citokine proinflamatorii produse local. Există bolnavi de AB cu forme severe, corticodependente, care dovedesc o scădere a sensibilității LT la efectul inhibitor al corticosteroizilor (dexametazon) (37). La acești bolnavi efectul inhibitor asupra LT helper se obține cu ciclosporină care a și fost utilizată cu succes în terapia acestor forme severe de AB (38).

2.4. **EOZINOFILELE** (E) sunt polimorfonucleare produse de către măduva hematogenă. Ele sunt circulante dar se află localizate preponderent în țesuturi (pentru fiecare E circulant există cca 200 E în măduvă și 500 E în alte țesuturi). Granulațiile sale bazice, ce se colorează cu coloranți acizi, ce conțin un echipament bogat de polipeptide și enzime. Se cunoaște efectul letal al E asupra larvelor de viermei paraziți (Schistosoma, Necator). În domeniul AB este cunoscută legătura dintre AB atopic și E dar interpretarea rolului E era contradictoriu: unele observații îi atribuiau efecte protective față de mediatorii proastmatici, dar observațiilor ultimilor 10 ani confirmă indubitabil efectele deletorii ale E asupra mucoasei bronșice la astmatici (39). Studiile bioptice în vivo au confirmat prezența masivă de E în bronșiile

astmaticilor (7, 8). S-a putut demonstra o corelaţie pozitivă între severitatea bolii astmatice (exprimată prin clinică şi criterii de hiperreactivitate bronşică) şi numărul de E din sângele periferic şi din LBA (40). Numărul E creşte considerabil în LBA la bolnavii astmatici cu reacţii tardive la cca 6 ore după stimulul alergenic (41). E conţin în granulaţiile lor substanţe preformate de tip proteic care au efecte biologice citotoxice marcate: eosinophil cationic protein (ECP), eosinophil derived neurotoxin (EDN), major basic protein (MBP), eosinophil peroxidase (EPO), arilsulfataza (42). După activare, E eliberează o sumă de mediatori activi proinflamatori astmatici cum sunt: leucotriena C4 (LTC4), platelet activating factor (PAF), prostaglandine E1 şi E2 (PGE1 şi PGE2), radicali de oxigen (43). Activarea E se face în sensul eliberării de mediatori preformaţi sau sintetizaţi şi se realizează în cea mai mare măsură prin citokine: GM-CSF (granulocyte monocyte colony stimulating factor), EAF (eosinophil enhancing factor), TNF-alfa, IL-3 şi, mai ales IL-5 (43). Aceşti stimuli cresc atât proliferarea medulară de E cât şi eliberarea de mediatori de către fiecare E în parte. Concentrarea unui număr mare de E la locul reacţiei alergice se face prin intermediul unor molecule de adeziune care favorizează marginaţia şi diapedeza, E la nivelul endoteliulului capilar bronşic (44). Efectele E activate asupra epiteliului respirator sunt severe: ciliostază şi citotoxicitate epitelială (prin MBP) şi mai ales detaşarea şi descuamarea de suprafeţe mari de epiteliu respirator (prin ECP), leziuni observate atât pe modelul experimental de animal cu AB cât şi la nivelul bronşiilor astmaticilor (43, 1). Betamimeticele reduc numărul E circulante şi nivelul ECP plasmatic (43). Corticosteroizii reduc numărul E circulante şi din ţesuturi. La bolnavii astmatici corticosteroizii inhalatori reduc cantitatea de ECP din lichidul de LBA, deci reduc activitatea E (45). Tratamentul cu beclometazon 2000 micrograme/zi timp de şase săptămâni determină la bolnavii astmatici o reducere semnificativă a E determinate prin biopsii de control ale mucoasei bronşice (43). Efecte similare se obţin cu budesonid (46).

3. ROLUL MOLECULELOR DE ADEZIUNE ÎN PATOGENIA ASTMULUI BRONŞIC

Unul dintre domeniile cele mai dinamice d.p.d.v. al achiziţiei informaţiilor în cadrul biologiei celulare şi al proceselor imune celulare este cel privitor la rolul moleculelor de adeziune (Adz). Există mai multe familii de

Adz, actualmente bine identificate: 1) integrinele (Int), glicoproteine transmembranare implicate în legăturile celulă-celulă și celulă-substrat (membrana bazală); ele sunt ubicuitare, găsindu-se practic la nivelul oricărei celule nucleate, 2) caderinele, determină o adeziune intercelulară Ca2+ dependentă, implicate doar în legăturile celulă-celulă; 3) familia imunoglobulinelor supergene/IgSF) prezentând domenii de structură asemănătoare cu Ig; sunt implicate mai cu seamă în legăturile celulă-celulă și în relațiile leucocite- endoteliu, 4) selectinele, glicoproteine transmembranare, implicate de asemenea în legăturile celulă-celulă și a etapelor precoce ale legării leucocitelor de endoteliu, 5) adezinele vasculare, glicoproteine situate la nivelul endoteliului vascular și responsabile de „parcarea" limfocitelor în organele limfoide specifice, 6) carbohidranți de legătură (carbohydrate ligands), de tipul antigenului Lewis X și sialil-Lewis X care sunt amplu implicate în legătura leucocit-endoteliu (47).

În rîndul acestor familii de Adz se poate face o primă distincție fundamentală între 1) Adz exclusiv structurale (caderine), 2) Adz sintetizate exclusiv în cursul proceselor inflamatorii (selectine și carbohidrați de legătură) și 3) Adz regăsite în structurile normale dar al căror număr și calitate crește considerabil în cursul inflamației (integrine și IgSF) (Tabel 1). Adz pot

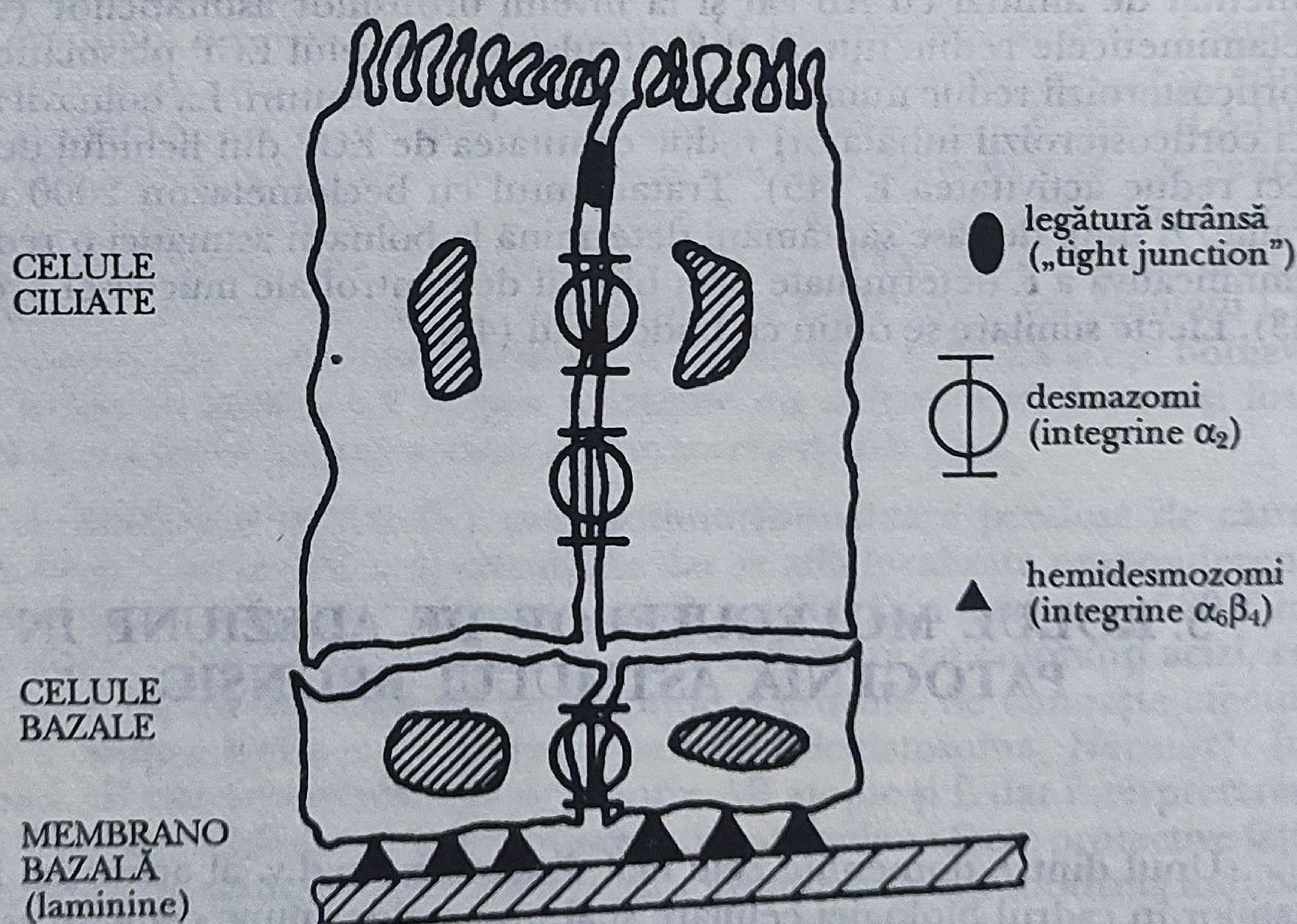


Fig. 2 Schema demonstrând legăturile normale între celulele epiteliului (după 48).

realiza legături între ele însele în funcție de configurația sterică ceea ce face ca fiecărui tip de Adz să îi corespundă o alta cu valoare de receptor (tabelul 2). În acest fel se realizează macrostructura celulară tridimensională a epiteliului bronșic între celulele componente pe de-o parte și membrana bazală pe de alta (fig.2). Legăturile pe care le realizează Adz condiționează nu numai integritatea structurală a epiteliului bronșic, dar și integritatea sa funcțională prin modularea permeabilității sale față de transportul lichidului paracelular-transepitelial. În AB se produce o lezare a acestor legături intercelulare și față de membrana bazală care induce pierderea epiteliului columnar (descuamare marcată) și o tulburare gravă a transportului de lichid transepitelial care condiționează apariția în lumenul bronșic a unui exudat important. Această dispariție a epiteliului determină pierderea modulării contracției mușchiului neted bronșic și acces nestingherit al alergenilor exogeni și a citokinelor locale la structurile profunde ale mucoasei. La aceste modificări se adaugă infiltrarea epiteliului cu mastocite, eozinofile, PMN și limfocite, la rândul lor celule activ producătoare de citokine și mediatori proinflamatori, precum și dezgolirea terminațiilor nervoase intraepiteliale.

Tabelul 1

Tipuri de Adz

	Familie	Localizare
Structurale (exclusiv)	Caderine	– epitelii, placenta, vase
Inflamatorii (exclusiv)	Selectine	– endotelii, plachete, leococite PMN, eozinofile, limfocite
	Carbohidrați de legătură	– leucocite PMN, Mf, plachete
Mixte (structurale și inflamatorii)	Integrine	– normal: colagen, lamin ine, vitronectina fibronectina, factor von Willebrand – inflamație: toate leucocitele, plachete
	IgSF	– normal: plachete – inflamative: toate LT, celepiteliale și endoteliale, Eoz, unele leucocite PMN.

Tabelul 2

Adz implicate în procesele inflamatorii (reprodus după 47)

Familie Integrine	Distribuţie	Contrareceptori de legătură
CD11a/CD18, LFA-1	toate leucocitele	ICAM-1, ICAM-2
CD11b/CD18, Mac-1, CR-3	Pmn, Mf, Lf	ICAM-1, fibrinogen, C3b i
		fibrinogen, C3b i
CD11c/CD18	PMN, Mf	VCAM-1
VLA-4	Eoz, Lf, Mf	fibrinogen, fibronectina
alfa2b beta3	plachete	vitronectina, von Willebrand trombospondina
IgSF		
....		
CD2 (LFA-2)	toate LT	LFA3
LFA-3	ubicuitar	CD2
ICAM-1 (mol. asz. intercel.-1)	endo–şi epitelii (induse)	LFA-1, MAC-1
ICAM-2	endotelii	LFA-1
VCAM-1 (mol. adz. vasc-cel.-1)	endotelii (induse)	VLA-4
PECAM-1 (mol. adz. plachete–endotelii–1)		PECAM-1, glicozaminoglicani
Selectine		
....		
E–selectine ELAM-1, LECAM-1	endotelii (induse)	sialil Lewis x, s-La, L-selection
P–selectine GMP-140, PADGEM	endotelii, plachete (induse)	s–Lx, L–selection
L–selectine	LT, PMN, Eoz	E şi P selectine
Carbohidraţi		
....		
sialil–Lewis (CD15)	PMN, Mf, Eoz	E şi P selectine

ROLUL ADEZINELOR ÎN INFLAMAŢIA BRONŞICĂ DIN ASTMUL BRONŞIC:

Se atribuie actualmente un rol fundamental adezinelor în recrutarea la nivelul peretului bronşic a celulelor active proinflamatorii: LT, Eosinofile, Macrofage şi probabil polimorfonucleare. Se considera că acest proces reprezintă o „cascadă" de evenimente moleculare, analoagă cu coagularea (49,50%). Se pot identifica 4 etape secvenţiale ale acestui proces: legare iniţială şi o activare slabă a integrinelor, adeziune puternică şi motilitate transendotelială (diapedeză). Aceste evenimente, determină recrutarea celulelor circulante imunologic active la nivelul endoteliului capilarelor bronşice unde s-a produs eliberarea de citokine sau mediatori proinflamatori. Acest mecanism este comun multor tipuri de procese inflamatorii, reprezentând o relaţie biunivocă-dialectică între leucocite şi endoteliul capilar.

Legarea inițială slabă se realizează prin selectinele L (situate pe leucocite) și E și P situate pe endoteliu, respectiv pe trombocite (plachete). Selectinele, de oricare parte s-ar afla (leucocit sau endoteliu) se leagă de moleculele de carbohidranți (Sialil-Levis) al celuilalt partener. În timp ce selectinele L se află în mod constitutiv pe orice leucocit, selectinele E se produc pe suprafața endoteliului sub influența unei activari citokinice. Astfel utilizând anticorpi monoclonali antiselectina E se pot identifica zone cu vascularizație suferind activare proinflamatorie endotelială pe un model experimental la animal (51).

Activarea integrinelor reprezintă etapa obligatorie intru realizarea unei legături puternice leucocit-endoteliu. Deși integrinele se afla constituțional prezente la suprafața leucocitelor, fără procesul de activare ele nu sunt capabile de a lega stabil celulele.

Se știe azi că în cazul PMN factorii activatori sunt reprezentanți de IL-8 și de PAF (platelet-activating factor). Alte substanțe numite chemokine pot activa integrinele de pe suprafața eozinofilelor, limfocitelor T sau a macrofagelor (a se vedea tabelul 2); de exemplu asupra macrofagului acționează MIP-1 alfa și MIP-1 beta (macrophage inflammatory proteins) iar asupra LT factorul numit RANTES (regulated on activation normal T expressed and secreted). Chemokinele circulante sunt captate de proteoglicanii de la nivelul feței endovasculare a endoteliului și odată imobilizate induc activarea integrinelor de pe suprafața LT circulante (52).

Adeziunea puternică se datorează legăturii dintre integrinele activate de pe suprafața leucocitelor și contrareceptorilor de pe suprafața endoteliului reprezentat de molecule din familia imunoglobulinelor supergene (IgSF). Cele mai importante sunt beta-2 integrinele (LFA-1 pe limfocite și Mac-1 pe PMN și macrofage), care se leagă de IgSF numite ICAM-1 și ICAM-2 (intercellular adhesion molecule) de pe suprafața endoteliului. Altă categorie, beta-1 integrinele (VLA-4) de pe limfocite și macrofage mediază legătura cu altă categorie de IgSF numite VCAM-1 (vascullar cell adhesion molecule) aflate tot la suprafața endoteliului. Expresia ICAM-1 și 2 și a VCAM-1 este modulată de acțiunea citokinelor proinflamatorii de tipul IL-1, IL-4 sau TNF alfa (53). Studiile imunochistochimice efectuate pe fragmente de mucoasă bronșică biopsiată la astmatici au demonstrat cu ajutorul Atc monoclonali anti-ICAM-1 și VCAM-1 expresia acestor molecule la suprafața endoteliului capilarelor bronșice ale astmaticilor (54). Blocarea ICAM-1 prin Atc monoclonali sau inhibiția expresiei sale la suprafața endoteliului blochează dezvoltarea sindromului inflamator bronșic diminuând eozinofilia și hiperreactivitatea bronșică (18, 19). Eozinofilele prezintă mecanisme similare cu PMN în adeziunea cu endoteliul vascular, PAF, fiind factorul care induce activarea lor (49).

Motilitatea transendotelială (diapedeza) a leucocitelor se face sub acțiunea unor factori chemotactici al căror mod de acțiune nu a fost elucidat.

PATOGENEZA ASTMULUI BRONȘIC PRIN PRISMA CERCETĂRILOR ACTUALE

Imaginea actuală privind patogenia AB se referă cu precădere la forme de AB extrinsec (din clasificarea Rackemann) cu mecanism imunopatologic bine confirmat. Se poate bănui că în și patogenia AB intrinsec (non alergic) există mecanisme similare, dar verigile patogenice ale acestei entități nu sunt bine elucidate.

Astmul bronșic – boală inflamatorie reprezintă o achiziție fermă a ultimilor 7–8 ani de explorare a acestei boli. Așa cum reiese din datele precedentelor paragrafe, inflamația are mai multe caracteristici: 1. interesează difuz arborele bronșic; 2. prezintă un caracter special din punct de vedere al componenței celulare a infiltratului inflamator, pe prim plan aflându-se eosinofilia; 3. există o descuamație difuză a epiteliului bronșic; 4. este prezentă și în formele ușoare de AB, 5. există o corespondență între activarea inflamatoare la nivelul peretului bronșic și expresia clinică a astmului; 6. remisiunea clinică sub tratament sau spontan recunoaște și o diminuare a leziunilor de tip inflamator; 7. blocarea uneia sau a alteia dintre verigile generatoare ale inflamației contracarează instalarea sindromului astmatic pe modelul experimental.

Este necesară o precizare: termenul de „inflamație bronșică" care este utilizat în mod curent pentru desemnarea acestei bronhiolite descuamative cu edem de mucoasă, hipersecreție și infiltrat celular polimorf în care predomină eozinofilele nu este identic cu leziunile inflamatorii caracterizând alte entități morbide (reumatologice, intestinale etc). Deși există verigi comune ale mecanismului patogenic, inflamația astmatică are particularități foarte nete.

Expresia clinică a unei inflamații active bronșice la bolnavii astmatici este următoarea: 1) apariția de crize zilnice, mai ales nocturne; 2) prezența de eozinofile în spută; 3) variații zilnice ale PEF mai mare de 30%; 4)demonstrarea hiperreactivității bronșice (HRB).

HRB poate fi obiectivată prin teste de provocare nespecifică cu histamină sau metacolină. Biopsii seriate de mucoasă bronșică la astmatici au putut demonstra HRB odată cu retrocedarea inflamației bronșice sub corticoterapie inhalatorie în interval de șase săptămâni de tratament (55) deși cei mai mulți autori consideră o relație directă între HRB și inflamația bronșică din AB, există și alte etiologii ale inflamației bronșice susceptibile de a induce HRB precum și infecțiile virale (56) și inhalarea de ozon (56). În aceste ipoteze patologice HRB dispare în cca cinci săptămâni. Cele expuse mai sus sunt sintetizate în schema din figura 3.

Factori declanșatori în cadrul AB alergic extrinsec țin de recontactul cu alergenul, după ce s-a constituit o populație de IgE specifică. IgE se află

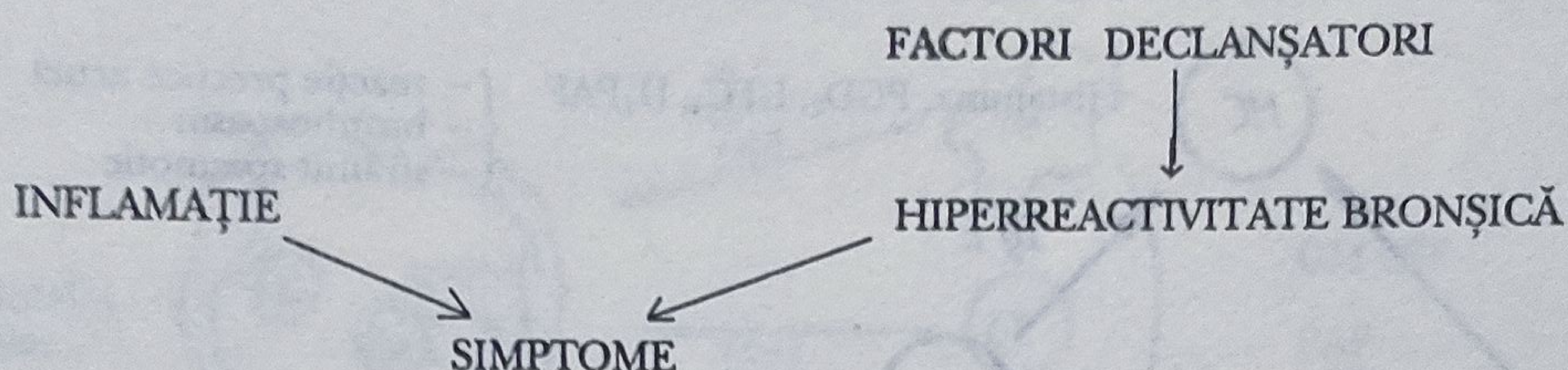


Fig. 3. Interrelațiile patogenice în astmul bronșic (după 58).

cuplate, prin intermediul extremității Fc de suprafața unor celule variate precum MC, Mf, sau celula endotelială.

Atunci când o moleculă de alergen cuplează două molecule de IgE învecinate pe suprafața celulei țintă și produce activarea acesteia.

Cea mai importantă consecință a activării o constituie degranularea Mc cu eliberarea de mediatori.

Mecanismul imunologic mediat de IgE specifice reprezintă calea de eliberare a celei mai mari cantități de mediatori din MC și calea cea mai eficace de activare a Mf. În evoluția bolii odată cu instalarea inflamației cronice bronșice pot deveni eficiente și alte mecanisme de declanșare, în mod normal mult mai puțin eficiente precum: factori chimici iritativi (radicali acizi de exemplu), creșterea osmolarității secrețiilor bronșice (la inhalare de aer poluat) scăderea temperaturii peretului bronșic (AB de efort), reacții reflexe vagale (componentă psihogenă) etc. Aceste mecanisme devin eficiente grație scăderii pragului de excitație caracterizând HRB.

Capacitatea de a reacționa la stimuli antigenici prin secreția de IgE este condiționată genetic (a se vedea paragraful referitor la participarea LT și LB în AB). Dar ea depinde și de factori de mediu inductori de iritație bronșică recurentă precum: poluarea atmosferică industrial urbană, fumatul, infecții bronșice repetate etc. Aceasta ar putea reprezenta explicația pentru incidența crescută de astmatici în ultimii 20 de ani în lume mai ales în țările cu standarde economice mai ridicate.

Odată cu recontactul eficient alergen – IgE se produc două tipuri de evenimente succesive cronologic: o reacție precoce și o reacție tardivă. Ele presupun mecanisme diferite:

Reacția precoce apare la 1–2 ore după expunerea la alergen. Ea are următoarele trăsături: 1) este produsă de mediatori de tipul histaminei; 2) apare înainte de a se putea documenta histopatologic inflamația; 3) este inhibată de beta-mimetice. 4) nu presupune existența HRB.

Reacția tardivă apare la 5–6 ore după stimulul alergenic. Trăsăturile sale sunt: 1) mecanismul se produce mai complex implicând o participare celulară multiplă, dintre care pe primul plan este eozinofilia; 2) asociată cu leziuni și

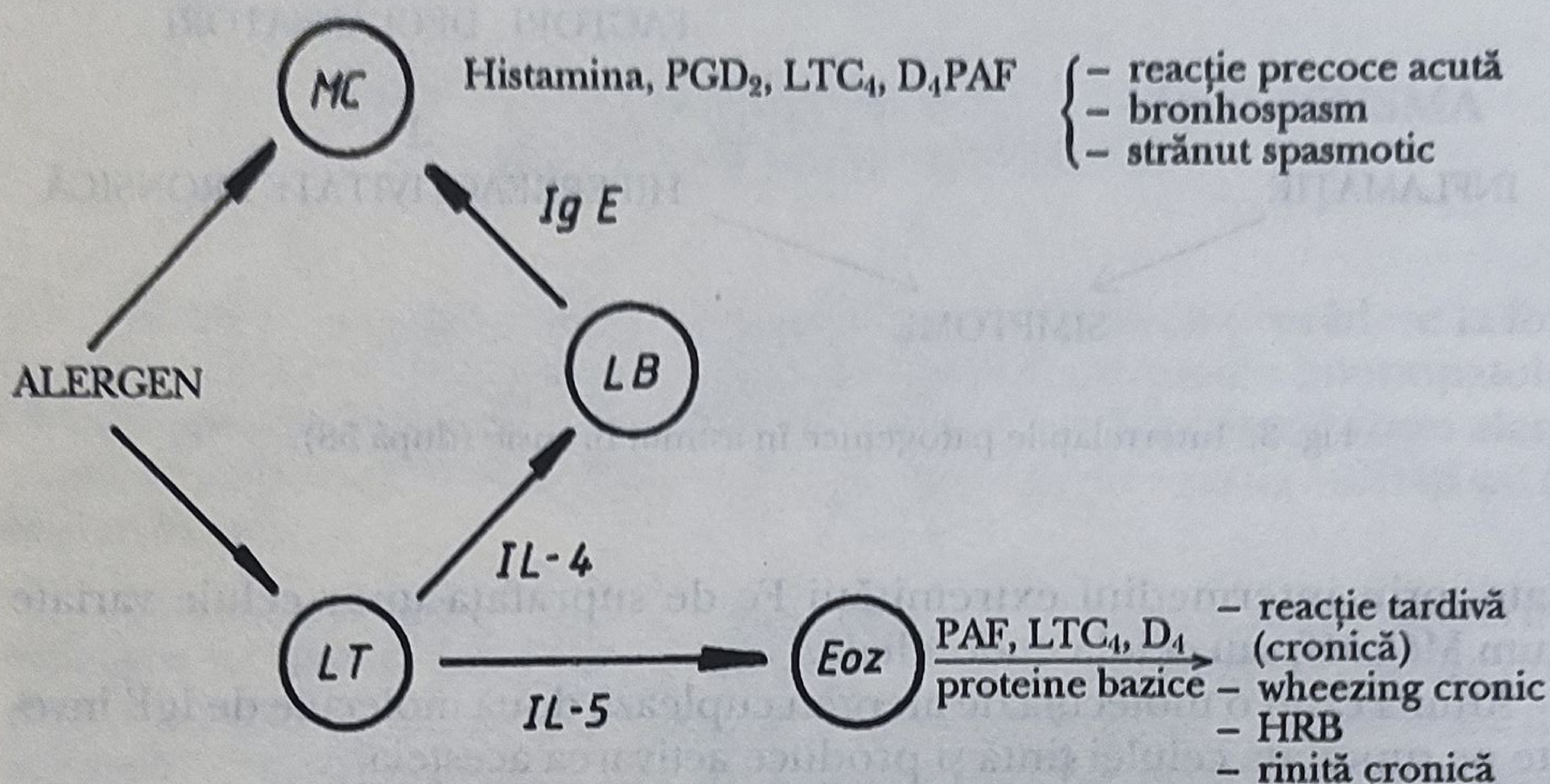


Fig. 4. Relaţia MC, LT, LB, Eoz în manifestările acute şi cronice ale AB (după 59).

inflamaţie bronşică; 3) nu este prevenită de beta-mimetice, dar poate fi corectată de corticoterapie; 4) asociată cu HRB. Atunci când stumulul alergenic este suficient de puternic şi de repetat se produce forma cronică de AB cu crize mai frecvente, uneori subintrante, severe nocturne însoţide de HRB severă.

Raportul între mecanismele fazei precoce şi tardive sunt reprezentate schematic în figura 4.

Se poate observa o ambiguitate: faptul că mediatori sunt prezentaţi atât în mecanismul fazei acute cât şi în cel a fazei cronice a AB. Se ştie că la nivelul arborelui traheobronşic instilaţia de leucotrine (LTC_4, D_4) sau PAF induce bronhospasm dar şi HRB persistentă 2–3 săptămâni. În acest sens cu excepţia histaminei care este un mediator abundent reprezentat în granulaţiile mastocitelor şi care este un mediator exclusiv de fază acută, ceilalţi mediatori au efecte cu remanenţă mult mai mare ei eliberându-se în cuante de fiecare dată ce se produce un nou stimul alergenic sau nespecific şi efectele lor se întreţes cu cele ale celulelor participante la inflamaţia şi în primul rând cu proteinele bazice ale eozinofilelor Mediatorii reprezintă astfel şi instrumente ale „reacutizării" AB cronic.

Celulele implicate în AB sunt activare şi pe calea stimulării specifice prin alergeni ai macrofagului, acoperit de IgE specifice.

Pe această schemă se vede participarea moleculelor de adeziune şi a citokinelor la dezvoltarea procesului inflamator bronşic astmatic.

Moleculele de adeziune contribuie la concentrarea în focarul de stimulare alergenică de celule imunocomponente (Mf şi LT) precum şi de

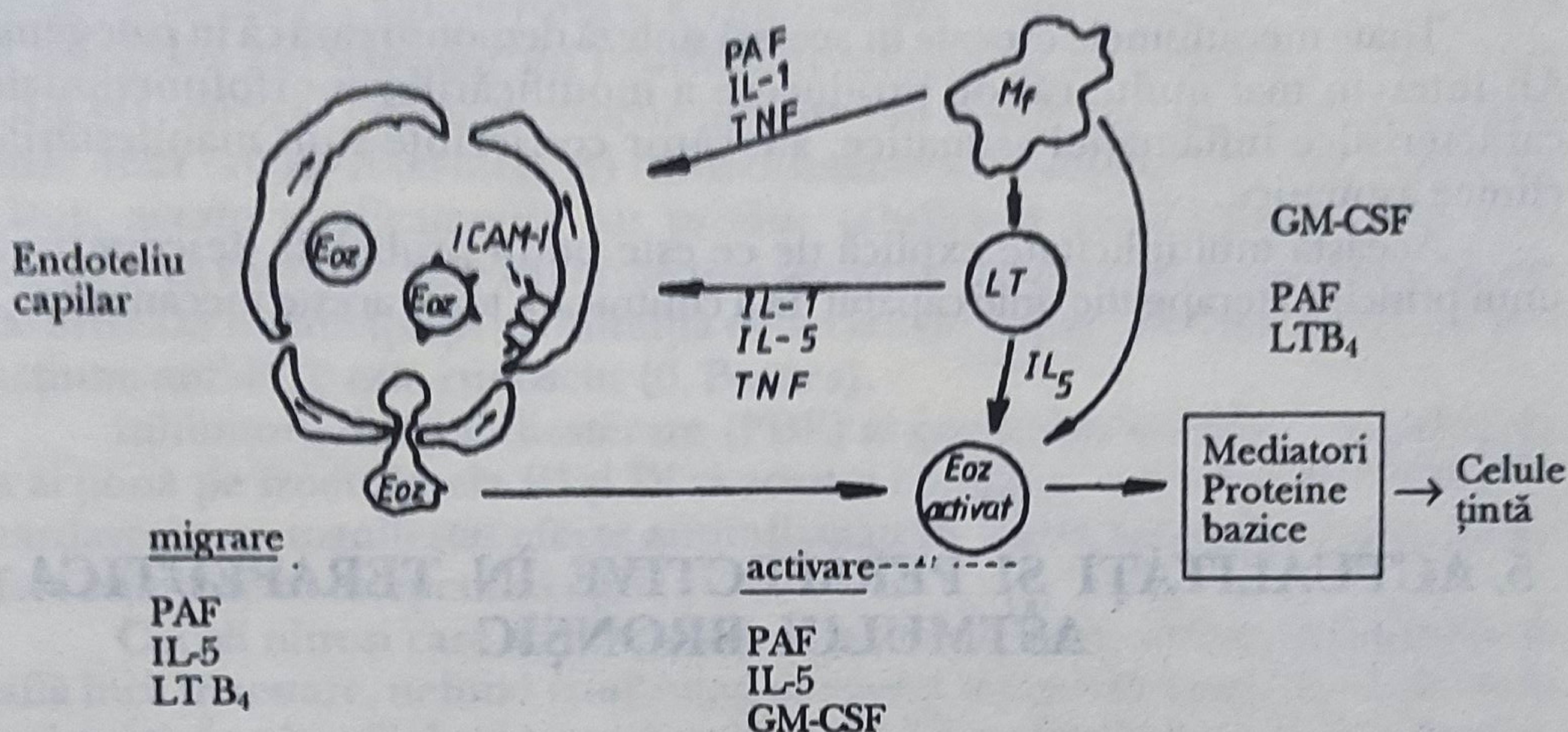


Fig. 5. Mecanismele inflamației eosinofilice (după 58).

eozinofile și PMN (a căror rol nu este încă exact elucidat. Întreaga paletă de citokine implicate mențin starea de activare celulară a infiltratului de tip inflamator devenind instrumente ale întreținerii procesului cronic astmatic.

Inervația autonomă are o contribuție în modularea procesului astmatic, deoarece, pe lângă inervația adrenergică și colinergică se acordă o mare atenție în ultimii ani sistemului inhibitor non-adrenergic non-colinergic (NANC) corelat cu acțiunea unor neuropeptide. Unele dintre acestea precum substanța P, neurokina A și CGRP (calcitonin-gene-related peptide) pot fi eliberate de determinațiile sensibilizate ale NANC inducând manifestări inflamatorii patente ale peretului bronșic și HRB.

Toți factorii prezentați mai sus acționează asupra celulelor țintă din peretele bronșic care sunt: celula musculară netedă, celula endotelială, celulele glandulare și terminațiile nervoase ale peretului.

Fibra musculară netedă suferă sub acțiunea repetată a mediatorilor proinflamatori și constrictori un proces de hipertrofie și hiperplazie (60).

Procesul nu este numai cantitativ dar s-a demonstrat și o scădere a pragului de excitabilitate musculară la stimuli variați tulburări în mecanismul de relaxare musculară (61, 62).

Celulele endoteliale își cresc permeabilitatea permițând edemul cronic al mucoasei cronice (63). Edemul mucoasei împreună cu modificările moleculelor de adeziune permit exudarea în lumenul bronșic, factor care împreună cu hipersecreția vâscoasă a mucoasei determină profilul atât de caracteristic al secrețiilor astmaticului și contribuie la obstrucția bronșică, adăugându-se bronhospasmul.

Toate modificările celulelor – țintă determină o îngroșare a peretului bronșic și o diminuare a razei de curbură a lumenului bronșiei astmatice.

Toate mecanismele evocate în această sinteză demonstrează că în patogenia AB intervin mai multe căi de producere a modificărilor morfofuncționale caracteristice inflamației astmatice, ale căror consecințe sunt manifestările clinice astmatice.

Această multiplicitate explică de ce este puțin probabilă descoperirea unui principiu terapeutic unic capabil de a contracara toate aceste mecanisme.

5. ACTUALITĂȚI ȘI PERSPECTIVE ÎN TERAPEUTICA ASTMULUI BRONȘIC

Deși se fac mari progrese în identificarea mecanismelor patogenice ale AB și mai ales a inflamației bronșice specifice, ultimii 20 de ani nu au văzut apariția unei noi clase de medicamente antiastmatice cu vocație de înaltă eficiență confirmată.

Există progrese în ceea ce privește medicamentele bronhodilatatoare. Unele molecule au intrat deja în uz (salmeterolul și formoterolul), altele nu au fost încă validate ca medicamente antiastmatice (vezi tabelul 3)

Tabelul 3

Noi medicamente bronhodilatatoare (după Barnes)

Ameliorare a medicamentelor existente	
beta2 mimetice	durată prelungită de acțiune (salmeterol,
metilxantine	enprofilina formoterol)
anticolinergice	blocante selective ale receptorilor M3
Noi medicamente	
activatori ai guanilciclazei	peptidul natriuretic atrial, corpi nitroși
inhibitori selectivi ai fosfodiesterazei	SK, F94120, zardaverina
activatori ai canalelor de potasiu	lemakalin

Betamimeticele prezintă efecte marcate bronhodilatatoare prin acțiune directă la nivelul fibrei musculare netede bronșice. Mecanismul lor de acțiune este mediat de creșterea AMP-C intracelular, stimularea receptorilor beta2 inducând activarea adenilciclazei (Bogdan, Gherasim, 1988). Pe lângă acest efect există și o acțiune pe celulele implicate în patogenia inflamației: diminuare a eliberării de mediatori din MC și celule epiteliale. Betaselectivitatea actualelor beta-mimetice (acțiune preponderentă pe receptorii beta-2 bronșici) este foarte înaltă. Introducerea moleculelor inhalatorii cu durată

lungă de acţiune (salmeterolul şi formoterolul) – de circa 10–12 ore – a pus la dispoziţie clinicienilor un instrument terapeutic cu capacitatea de a controla mai eficient crizele nocturne de astm sau unele crize de astm rezistent la doze mari (1000–2000 mcg/zi) de beclometazon (indice P. Duroux). Surprinzător, aceste medicamente nu produc tahifilaxie (4, Barnes). Dacă sunt utilizate ca monoterapie în forme mai active de astm există suspiciunea ca ele favorizează inflamaţia prin inhibiţia eliberării de heparină de către MC a cărei acţiune anti-ECP este cunoscut (6, Barnes).

Inhibitorii de fosfodiesteraze (PDE) ai generaţiei moderne, capabili de a acţiona pe izoenzimele III şi IV ai acestui complex, cum sunt SKP 94120 şi zardaverin au manifestat efecte antiinflamatorii foarte interesante, dar nu au fost asimilate în terapeutică. (67).

Corpii nitroşi care au efecte vasodilatatoare dar şi bronhodilatatoare se află încă în testare, nefiind confirmaţi ca agenţi terapeutici superiori celorlalţi existenţi. În ultimile luni se evaluează efectul bronhodilatator al NO (monoxidul de azot).

Probabil că viitorul cel mai interesant al terapeuticii AB se leagă de înţelegerea mecanismelor inflamaţiei bronşice, cu implicaţiile lor imunopatologice.

Imunomodulatoarele sunt active prin efectul lor de deprimare a LT de tip CD4+ (helper).

Metotrexatul a fost asociat în tratamentul formelor severe de AB, cu cortizonodependenţă la doze mari zilnice. Studiile publicate iniţial au raportat efecte pozitive ale tratamentului cu doze mici (7,5–15mg/săptămână) în sensul controlului mai eficient al simptomatologiei şi a reducerii necesarului zilnic de CS (68, 69, 70). Curând s-au raportat şi efecte secundare severe ale Metotrexatului, în sensul apariţiei după cca 2 ani de tratament a unei fibroze pulmonare şi într-un caz o pneumonie cu Pneumocystis carinii (71). Un studiu foarte recent şi în dublu-orb, controlat palcebo, şi încrucişat (crossing-over) efectuat pe 11 bolnavi astmatici severi, cu o doză mică de Metotrexat (15mg/săptămână) timp de 12 săptămâni a arătat răspuns pozitiv doar la 3 din cei 11 bolnavi (72). Acest tratament rămâne o soluţie de excepţie, individualizat în cazuri foarte severe de astm bronşic.

Ciclosporina A, puternic inhibitor selectiv al LT CD4+, a cărui utilizare a revoluţionat transplantul de organe, a fost încercată în tratamentul unor forme severe de AB (cu rezistenţă la CS) (73, 74). Efectele clinice, precum şi scăderea necesarului zilnic de CS au reprezentat rezultate pozitive ale cărui manifestări secundare negative severe (HTA, nefrotoxicitate, depresie, imunitară, reduc drastic indicaţiile acestei terapii.

Inhibitori ai citotoxinelor. Blocarea producţiei de citokine are consecinţe de diminuare a procesului inflamator. Actualmente se consideră ca efectele antiinflamatorii ale corticosteroizilor se datorează în mare măsură

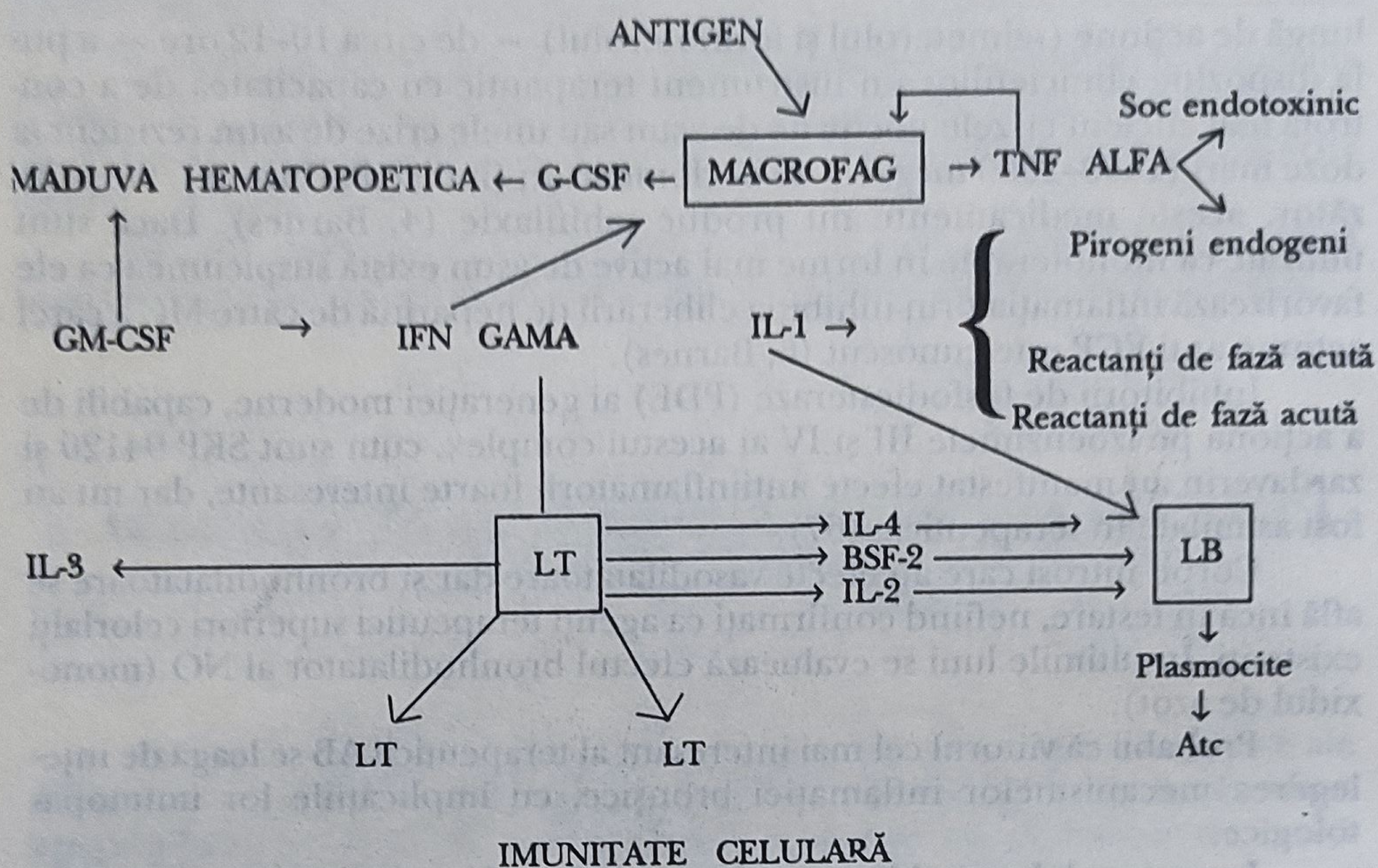


Fig. 6. Blocarea citokinelor prin acțiunea CS susceptibilă de a influența activarea proceselor imune umorale și celulare (după 14). Se notează cu nivelul blocajului.

blocării producției de citokine de către LT și Mf. În fig 6 sunt prezentate nivelele la care CS acționează blocând producția de citokine. CS prezintă capacitatea de a bloca secreția limfocitară sau macrofagică a: IFN-gama, GM-CSF, TNF, IL-1, IL-2, IL-3 și în mai mică măsură IL-4. Represia granulopoezei centrale precum și a dezvoltării clonelor specifice de LB explică diminuarea nivelelor plasmatice de IgE și efectul antieozinofilic al tratamentului cu CS.

Blocarea sintezei de citokine prin polinucleotizi antigeni. Această metodă se bazează pe producerea unei secvențe nucleotidice complementare cu ARN-m director al sintezei unei citokine. Metoda a devenit operantă odată cu decodarea secvenței nucleotidice a genelor umane. Introducerea la nivelul unei celule ținta a oligonucleotidului artificial complementar va bloca sinteza de ARN-m codificând exclusiv produsul final (citokina) unei singure gene (15, 16). S-a reușit blocarea in vitro a producției de IL-1, pe cultura de celule murine și umane, realizându-se efecte biologice antiinflamatori și pe animalul de experiență (17). Domeniul oligonucleotizilor antisens se afla la debuturile sale.

Blocarea moleculelor de adeziune. Producția de Atc monoclonali anti Adz împiedică procesele de marginație leucocitară, inhibând sosirea de celule

imunocomponente la nivelul unui țesut critic (LT, PMN, Mf, Eoz). Procesul inflamator secundar prezenței în număr sporit a acestor celule va fi diminuat până la dispariție. Tratarea unui animal de experiență (maimuță) – model de AB atopic experimental cu Atc monoclonali anti ICAM-1 duce la prevenirea infiltrației locale de E și a sindromului inflamator bronșic însoțit de hiperreactivitate bronșică (18). Altă posibilitate de intervenție o reprezintă blocarea competitivă a expresiei ICAM-1 pe suprafața celulei endoteliale (19).

Metoda cea mai importantă de imunomodulație utilizată actualmente în tratamentul inflamatei astmatice este corticoterapia (inhalatorie sau pe cale generală). Celelalte metode evocate nu reprezintă decât speranțe de viitor, fiind mai cu seamă interesante pentru problemele de biologie moleculară și pentru perspectivele pe care le evocă.

BIBLIOGRAFIE

1. LACOSTE J.V., CHANEZ P., PAGANIN F., GRODARD Ph., MICHEL F.B., BOUSQUET J: *Inflamation bronchique de l'asthmatique.* Rev. Mal. Resp. 1991, 8, 533–41.
2. MOLINA C., COULET M., DELAGE J: *Imunopathologie de la muqueuse bronchique de l'asthmatique – étude de la 50 cas d'asthmes apparus á l'âge adulte.* Rev. Mal. Resp. 1975, 3, 1011–26.
3. FUJISAMA T., KEPHART G.M., GRAY B.H., GLEICH G.J.: *The neutrophil and chronic inflamation.* Am. Rev. Resp. Dis.-1990, 141, 689–97.
4. *Summary and recommendations of a worhshops en the investigative use of fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in asthmatics.* Am. Rev. Resp. Dis. 1985, 132, 160–2.
5. RANKIN J., SINYDER P., SCHACHTER E.N., MATHAY R.A.: *Bronchoalveolar lavage. Its safety in subjects with mild asthuma.* Chest, 1984, 85, 723.
6. DJUKANOWIC R., WIBON J.W., LAI C.K.W., HOLGATE S.T., HOWARTH P.H.: *The safety aspects of fiberoptic bronchoscopy, bronchoalveolar lavage and endobronchial biopsy in asthma.* Am. Rev. Resp. Dis. 1991, 143–772.
7. BEASLEY R., ROCHE W.R., ROBERTS J.A., HOLGATE S.T.: *Cellular events in the bronchi in mild asthma and after provocation.* Am. Rev. Resp. Dis. 1989, 139, 806–17.
8. JEFFERY P.K., WARDLEW A.J., FIONA F.C., COLLINS J.V., KAY A.B.: *Bronchial biopsies in asthma.* Am. Rev. Resp. Dis. 1989, 140, 1475–53.
9. LAITINEN L. A. HEINO M., LAITINEN A.: *Donarage of the airway epitelium and bronchial reactivity in patients with asthma.* Am. Rev. Resp. Dis. 1985, 131, 599–606.
10. ROCHE W.R., WILLIAMS J.H., BEASLEY R., HOLGATE ST: *Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmaties.* The Lancet, 1989, 1. 520–4.
11. MURRAY J.J., TONNEL B.A., et. col.: *Release of prostaglandin D2 intohumman airways during acute antigen challenge.* M. Engl. J. Med., 1986, 315 (13), 800–06.
12. WIBON J.W., DJUKANOVIC R., HOWARTH P., HOLGATE S.T.: *Lymphocyte activat in bronchoalveolar lavage and peripheral blood in atopic asthma.* Am. Rev. Resp. Dis. 1992, 145, 958–60.
13. FLINT K.C., LEUNG K.B.P., HUDSPITH B.M., BROSTOFF J., PEARCE F.L., JOHNSON M.Mc. I: *Bronchoalveolar mast – cells in extrinsic asthma: the initiation of the specific bronchoconstriction* Md. J. 1989.

14. PEARCE F.L.: *On the heterogeneity of mast cells.* Pharmacology 1986, 32, 61–71.
15. PEARCE F.L.: *Mast cells and basophils. In Astma-basic mechascifros and clinical management* (2-nd Edn) Sub redacția P.J. BERNES. Academia Press Lted, 1992, p.87.
16. EGGLESTON P.E., KAGEY-SOBOTKA A., SCHLEIMER R.P., LICHTENSTEIN L.M.: *Interaction betmeen hyperormonal and IgE-mediated histamine realise from bosophils and mast cells.* Am. Rev. Resp. Dis. 1984, 130, 86–91.
17. MILLAR A.B., HUDSPITH B.M., LAN A., PEARCE F.L., JOHNSON M.Mc. I: *A mechanism for the role of steroids in the treatment of asthma.* Thorax. 1989 44, 359.
18. LEUNG K.P.B., FLINT K.C., BROSTOFF J: *Effects of sodium cromoglicate and nedocromil sodium on histamine secretion from human lung mast cells.* Thorax, 1988, 43, 756–61.
19. BURD P.R., ROGERS H.W., GORDON J.R. et. al.: *Interleukin 3-dependent and independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple citokines.* J. Exp. Med. 1989, 170, 245–47.
20. RICH E.A., TIREARDY D.J., FUJIWARA H., ELLNER J: *Spectrum of immunoregulatory functions and properties of human alveolar macrophages.* Am. Rev. Resp. Dis. 1987, 136, 258–65.
21. SIBILLE Y., REGNOLDS H.Y.: *Macrophages and polimorphonuclear neutrophils in lung defense and injung.* Am. Rev. Resp. Dis, 1990, 141, 471–501.
22. FULLER R.W., Macrophages In: *Asthma-basic mechanisms and clinical management (2-nd Edn).* Sub redacția P.J. Barnes Academic Press. Lted, 1992, p. 99.
23. BAKER A.J., FULLER R.W.: *Effect of C'AMP, MECA and methilxanthines on the activation of human alveolar macrophages in vitro.* Br. J. Pharma. 1991.
24. BAKER A.J., FULLER R.W.: *Anti-inflammatory effects of salmeterol of human alveolar macrophages.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 141, A 394.
25. PILEWSKI J.M., ALBELDA S.M.: *Adhesion molecules in the lung.* Am. Rev. Resp. Dis. 1993, 148, 531–37.
26. JEFFERY P.K., WARLEW A.J., NELSON F.C., COLLINS J.V., KAY A.B.: *Bronchial biosies in asthma: on ultrastructural quantitative study and correlation with hyperreactivity.* Am. Rev. Resp. Dis. 1989, 140–1745–53.
27. AZZAWI M., BRADEY B., JEFFERY P.K. et. al: *Identification of activated T-lymphocytes and eosinophils in bronchial in stable atopic asthmaties.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 142, 1407–13.
28. CONIGEN C.J., KAY A.B.: *CA4T-lymphocytes activation in acute asthma. Relationship to disease severity and atopic status.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 141, 970–7.
29. DEL PRETTE G.F., MAGGI E., PARRONCHI P et al.: *IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T-cell clones and their supernatants.* J. Immunol, 1988, 140, 4193–98.
30. MAC DONALD S.M., LICHTENSTEIN L.M., PROUD D et. al.: *Studies of IgE dependent histamine-releasing-factors: hetcrogeseity of IgE.* J. Immunol. 1987, 139, 506.
31. GAJEVSKI T.F., JOYCE J., FITCH F.W.: *Antiproliferative effect of IFM-8 in immune regulation. Differential selection of Th1 and Th2 murine helper T-lymphocytes clones using recombinant IL-2 and recombinant IFM-8.* J. Immunol. 1989, 143, 15–20.
32. CORRINGAN C.J., KAY A.B.: *T-lymphocytes In: Asthma-basic mechanism and clinical management (2-nd Edn).* Sub redacția P.J. Barnes. Academic Press Lted, 1992, p. 125.
33. ROBINSON D.S., QUTAIBA MRCP. SUN YING, TSICOPOULOS A., BARHANS J., BENTLEY AM., CORRINGAN C., KAY A.B.: *Predominant Th-2 – like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma.* M. Engl. J. Med. 1992, 326, 298–304.
34. COGAN E., SCHANDENÉ L., CRUSIAUX A., COCHAUX P., VELU T., GOLLMAN M: *Clonal proliferation of type 2 helper T cells in a man with the hypereosinophilie syndrome.* M. Engl. J. Med. 1994, 330, 535–8.
35. KEY A.B.: *Origin of type 2 helper T cells* (Edit) M. Engl. J. Med. 1994, 330, 567–8.

36. WIBON J.W., DJUKASCOVIC R., HOWARTH P.H., HOLGATE S.T: *Inhaled beclonethasone dipropionate donnregulates airway lymphocyte activation in atopic asthma.* Am. J. Resp. Crit. Care Med. 1994, 149, 86–90.
37. CORRINGAN C.J., BROWN P.H., BARNES N.C., SZEFLER S.J., TSAI J.J., FREW A.J., KAY A.B.: *Glucocorticoid pharmataikinetics, glucocorticoid recepto characteristics and inhibition of peripheral blood T cell proliferation by glucocorticoids inb vitro.* Am. Rev. Resp. Dis. 1991, 144, 1016–25.
38. ALEXANDER A.G., BARNES N.C. KAY A.B.: *Trial of cyclosporin in corticosteroid-dependent chronic severe asthma.* Lancet, 1992, 339–324.
39. GHERASIM L., BOGDAN M: *Actualități în patogenia și terapeutica astmului bronșic.* Edit. Med. București, 1988.
40. BOUSQUET J., CHANEZ P., LACOSTE J.Y., BARNÉON C., VENGE P., GODARD P., MICHEL F.B., et al.: *Assessment of clinical relevance of bronchial inflammation in asthma.* M. Engl. Med., 1990, 323, 1033–9.
41. DE MONCHY J.R., KAUFFMAN H.F., VENGE P et al.: *Broncho-alveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions.* Am. Rev. Resp. Dis. 1985, 131, 373–76.
42. KROEGEL C., VIRCHOW J.C., LUTTMAN W., WALKEN C., WARNER J.A.: *Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte* (Part. I) Eur. Resp. J. 1994, 7, 519–43.
43. DAHL R., VENGE P., FREDENS K: *Eosinophils.* In *Asthma basic mechanisms and clinical management* (2-nd Ed.). Sub redacția P. J. Barnes Academic Press Ltd. 1992, p.111.
44. HOLGATE S.T., WILSON J.R., HOWARTH P.H.: *New insights into airway inflammation by endobronchial biopsy.* Am. Rev. Resp. Dis. 1992, 145, 52–7.
45. ADELROTH E., ROSENHALL L., JOHANSSON S.A., LINDEN M., VENGE P: *Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatics investigated by bronchoalveolar lavage: the effects of antiasthmatic treatment with budesonide or terbutaline.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 142, 91–99.
46. LATINEN L.A., LATINEN A., HEINO M., HOAHTELA T: *Eosinophil airway inflammation during exacerbation asthma and its treatment with inhaled corticosteroid.* Am. Rev. Resp. Dis. 1991, 143, 462–8.
47. PILEWSKI J.M., ALBELDA S.M.: *Adhesion molecules in the lung* (an Am. Rev. Resp. Dis. 1993, 148 (suppl: 531–7).
48. ROCHE W.R., MONTEFORT S., BAKER J., HOLGATE ST: *Cell adhesion molecules and the bronchial epithelium.* Am. Rev. Resp. Dis. 1993, 148, (suppl: 579–82).
49. SMITH C.H., BARHER J.N.W.N., LEE H.T.:*Adhesion molecules in allergic inflammation.* Am. Rev. Resp. Dis. 1993, 148 (Suppl 575–8).
50. ADAMS D.H., SHAW S.: *Leucocyte-endotelial interactions and regulation of leucocyte migration,* Lancet, 1994, 831–6.
51. KEELAN E.T.M., HARRISON A.A., CHAPMAN P.T., BINNS R.M., HAKARD D.O.: *Imaging endothelial vascular activation: an approach using radiolabeled monoclonal antibodies against the endothelial cell adhesion molecule E-selectin.*
52. TANAKA Y., ADAMS D.H., HUBSCHER S., HIRANE H., SHAW S.: *T-cell adhesion induced by proteoglycan-immobilized cytokine MIP±1, beta,* Nature, 1993; 361: 79–82.
53. SWERLICK R.A., LEE K.H., LI L., SEPP N.T., GUGHMAN S.W., LAWLEY T.J.: *Regulation of vascular cell adhesion molecule 1 on human dermal microvascular endothelial cells.* J. Immunol. 1992; 149: 698–705.
54. MONTEFORT S., ROCHE W.R., HOWARTH P.H., DIJUKANOVIC R., HASKARD D.O., LEE T.H., HOLGATE S.T. et al.: *Intercellular adhesion molecule (ICAM-1) endothelial adhension molecule 1 (ELAM-Nexpression 1 in the bronchial mucosa of normal and asthmatic subjects.* Eur. Resp. J. 1992; 5: 815–23.
55. HOLGATE S.T., WILSON J.R., HIWARTH P.H.: *New insights into airway inflammation by endobronchial biopsy.* Am. Rev. Resp. Dis. 1992; 145; 52–6.

56. EMPEY D.W., LAITINEN L.A., JACOBS L. et al: *Mechanisms of bronchial hyperreactivity in normal subjects after upper respiratory tract infections.* Am. Rev. Resp. Dis. 1976; 113; 131–9.

57. GOLDEN J.A., BOUSHEY H.A., NADEL J.A. et al.: *Bronchial hyperiritability in healthy subjects after exposure to ozon.* Am. Rev. Resp. Dis. 1978: 118; 287–94.

58. BARNES P.J., RODGER I.N., THOMSON N.C.: *Pathogenesis of asthma* In: *Asthma –basic mechanisms and clinical management (2-nd Ed).* Sub redacţia P.J. Barnes. Academic Press Ltd. 1992, p.393.

59. KAY A.B.: *Helper CD_4+T cells and eosinophils in allergy and asthma.* Am. Rev. Resp. Dis. 1992; 145:522–6.

60. EBINA M., YAEGASFI H., CHIBA R., METEMIYA M., TANEMURA M: *Hyperreactive site in the airway tract of asthmatic patients recoded by thickening of bronchial muscles: a morphomatic study.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990; 141: 1327–32.

61. THOMSON N.C.: *In vivo versus in vitro human airway responsireness to different pharmacologic stimuli.* Am. Rev. Resp. Dis. 1987; 136: 550

62. CERRINA J., LEDURIE M.L., et. al.: *Comparison of human bronchial muscle response to histamine in vivo with histamine and isoproterenol agonists in vitro.* Am. Rev. Resp. Dis 1986; 134:57.

63. BARNES P.J., CHUNG K.F., PAGE C.P.: *Inflammatory mediators and asthma* Pharmacoll Rev., 1988, 40:49–84.

63. BARNES P.J., THOMSON N.C., RODGER J.W.: *Future trends in therapy.* In: Asthma – basic mechanisms and clinical management (2nd Ed.). Sub red. P.J. Barnes. Academic Press Ltd, 1992, p.735.

64. ULLMAN A., HEDNER J., SVEDMIR N: *Inhaled salmeterol and salbutamol in asthmatic patients. An evaluation of asthma simptoms and the possible developement of tachyphilaxis.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 142, 571–75.

65. PAGE C.P.: *One explanation for the asthma para dox: inhibition of rational anti-inflammatory mechanism by beta-agonists.* Lancet, 1991, 337, 717–20.

66. TORPHY T.J., UNDEM B.J.: *Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma,* Thorax, 1991, 46, 499–503

67. DENT G., EVANS P.M., CHUNG K.F., BARNES P.J.: *Zardaverine inhibits respiratory burst activity in human eosinophils.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 141,A 392.

68. MULLARKEY M.F., BLUMENSTEIN B.A., ANDRADE W.P. et. al.: *Methotrexate in the treatment of corticosteroid-dependent asthma:* A doublo-blind, crossover study. M. Engl. J. Med., 1988, 318, 603–8.

69. MULLARKEY M.F., LAMME J.K., BLUMENSTEIN B.A.:*Long term methotrexate treatment in corticosteroid-dependent asthma.* Am. Int. Med., 1990, 112, 577–81.

70. SHINER R.J., NUNN A.J., CHUNG K.F., GEDDES D.M.: *Randomised, doubleblind, placebo controlled trial of methotrexate in steroid–dependent asthma.* Lancet, 1990, 336, 137–40.

71.KUITERT L.M., HARRISON A.C.: *Pneumocystis carinii pneumonia as a complication of methotroxate treatment of asthma.* Thorax, 1991, 46, 936.

72. COFFEY M.J., SANDERS G., ESCHENBACHER W.L., et al.: *The role of methotrexate in the menagement of steroid-dependent asthma.* Chest, 1994, 105, 117–21.

73. ALEXANDER A., BARNES M.C., KAY A.B. *Cyclosporin A in chronic severe asthma: a double-blind placebo-controlled trial.* Am. Rev. Resp. Dis. 1991, 143, A 633.

74. ALEXANDER G.A., BARNES M.C., KAY B.A.: *Trial of cyclosporin in corticosteroid-dependent chronic severe asthma.* Lancet, 1992, 339, 324–8.

75. MUNCK A., MENDEL D.B., SMITH L.I., ORTI E.: *Glucocorticoid receptors and actions.* Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 141, 52–510.

76. TONLME J.J.: *Les antisens: science et patience* m/s, 1994, 10 (3), 250–2.

77. HELENE C., SAISON-BEHMOARAS E.: *La strategie antisens: nouvelles approaches therapeutiques* m/s, 1994, 10(3), 253–73.

78. BURCH R.M., MAHAN L.C.: *Oligonucleotides antisense to the IL-1 receptor mRNA block the effect of IL-1 in culture murine and human fibroblasts and in mice.* J. Clin. Invest, 1991, 88,1190–6.
79. WEGNER C.D., GUNDEL L., REILLY P., HAYNES N., LETTS L.G., ROTHLEIN R: *Intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma.* Science, 1990, 247, 456–9.
80. JURGENSEN C.H., HUBER B.C., ZIMMERMANN T.P., WOLBERG G.: *3-Deazoadenosine inhibits leukocyte adhesion and ICAM-1 biosynthesis in TNF-alfa-stimulated human endothelial cells.* J. Immunol, 1990, 144, 653–61.
81. Executive summary: *Guidelines for the diagnosis and management of asthma.* U.S. Department of Health and Human Services. Betheste, Maryland, 1991.

AUTOIMMUNITY

Prof. dr. CONSTANTIN A. BONA

Department of Microbiology
The Mount Sinai School of Medicine
Annenberg Building
New York
USA

I. HISTORICAL BACKGROUND

The major property of the immune system is to distinguish self from nonself and therefore to maintain macromolecular homeostasis. The immune system, by its effector arms, is able to clear not only foreign macromolecules, microbes or cells but its own aged cells or defunct proteins.

Under certain conditions, the animals are able to develop immune responses against self antigens, a circumstance called autoimmunity which sometimes may lead to the occurrence of autoimmune disease. Ehrlich was the first at the beginning of the century (1901) to understand the logical necessity that vertebrates must possess mechanisms inhibiting the immune responses against self. He coined the term "horror autotoxicus" to depict the dire consequences of recognition of self, the crucial event leading to autoimmunity. This concept was accepted by immunologists for many decades without a clear understanding of mechanisms preventing antiself immune response.

Burnet, in his *clonal selection theory* (1), tried to define the mechanisms preventing anti-self response proposing that clones expressing receptors for fetal antigens are eliminated or arrested in their development by a phenomenon called natural tolerance. He also postulated that emergence of forbidden self reactive clones, later in life resulted from somatic mutations in the genes coding for the specificity of lymphocytes receptor, leading to the conversion of nonself reactive clones into self reactive clones.

Deletion of self-reactive clones was largely documented by early studies indicating lack or low frequency of precursors for self antigens, as well as by recent studies conducted on chimeric or transgenic animals. For example, transgenic animals expressing foreign antigen like hen egg lysozyme (HEL) on the surface of cells or allo-MHC antigens lead to the deletion of lymphocytes specific for such antigens (2).

Subsequent observations clearly indicated that not all self precursors are deleted, anyway. These observations led Nossal et al. to formulate *anergy* concept (3). According to their concept, emerging lymphocytes pass through a tolerance-sensitive or obligatory paralizable stage in which, upon encounter of antigen, they become functionally inactivated or silenced, but not deleted. Therefore, according to this theory, the lymphocytes able to recognize self antigens and to be stimulated by them to produce autoantibodies or T-lymphocytes inducing tissue injuries as primary lesions leading to the onset of autoimmune disease, are anergized.

Careful analyses actually allow to define self reactive lymphocytes in both T and B lymphocyte populations and they can be classified as following:

1. **B cell clones producing polyreactive antibodies.** This naturally occurring antibodies bind with low affinity to multiple self and foreign antigens. They are generally encoded by nonmutated germline genes and their major characteristic is their high degree of connectivity. The beneficial effect of such antibodies is not well documented but they could represent a protection device neutralizing toxic metabolites (4) and eliminating senile or malignant cells (5), or an early defensive line against microorganisms (6).

2. **B cell clones producing antibodies with exquisite specificity for autoantigens.** Hybridoma technology allows for immortalization of precursor cells able to synthesize monospecific autoantibodies from both normal subjects and from subjects prone to autoimmune disease (7, 8). It has not been possible, however, to show that these antibodies cause disease.

3. **B cell clones producing pathogenic autoantibodies.** These antibodies are responsible for the onset of the disease and tissue damage following natural or experimental transfer.

4. **T cells responsible for autologous mixed lymphocyte reactions.** Such T cells appear to be an unanticipated consequence of positive selection in the thymus since they are specific for major histocompatibility complex (MHC) antigens. These cells are activated in the absence of any identifiable foreign antigen by interaction with MHC class II molecules (9).

5. **T cells specific for autoantigens found in healthy and diseased individuals.** T cell clones able to recognize self peptides have been isolated from peripheral blood lymphocytes of human healthy subjects. For example, T cell clones specific for type II collagen are found in healthy subjects as well as in patients with rheumatoid arthritis (10).

6. **Pathogenic T cells able to transfer autoimmune disease.** For logistical reasons, such reactive T cell clones can be demonstrated only in experimental systems, employing genetically identical, inbred animals.

Based on the existence of self-reactive clones in normal animals, Jerne proposed an opposite theory of the immune system, namely *network theory* (11, 12). According to this theory, the major function of the immune system is to look inside self, since actually the system represents a web of V domains interconnected by idiotypes making the specificity and the diversity of the immune network. Idiotypes expressed on the surface of antigen receptor, being Ig or TCR, are recognized by other clones and they represent the *internal image* of the universe of foreign and self antigens. Clones continuously communicate with one another using idiotypic dictionary that creates an extensive idiotypic network, which, in turn, contributes to the maintenance of general macromolecular homeostasis.

In aggregate, there are numerous evidences that the vertebrate immune repertoire is made up of clones able to recognize foreign or self antigens or both. Threre are also data that the alterations of the interrecognition processes lead to the occurrence of autoimmune diseases.

The unifying feature of autoimmunity is the damage of self tissues mediated by humoral and/or cellular immune responses. Although these responses usually lead to tissue destruction, in some instances autoantibodies against cell receptors may stimulate or inhibit specialized cell functions without cellular impairment but with functional alterations.

However, despite the sustained efforts have been made, as yet there is no unifying concept to explain the etiology of many clinically distinct and diverse autoimmune diseases. Today, endeavors to unravel the mysteries of these pathological entities, to understand their mechanisms and molecular origins, constitute a major challenge for scientists.

II. AUTOIMMUNITY AT THE CELLULAR AND MOLECULAR LEVEL

Autoimmune diseases can be mediated by autoantibodies or T cells or by both. The pathogenic autoantibodies or T cells are specific for autoantigens. Therefore, the autoimmune diseases can be classified based on

effector mechanisms of tissue damage, namely *autoantibodies* or *autoreactive T cells.* However, the effectors an interact with antigens located within a single tissue ("tissue specific") or with antigens presented in various tissues.

The autoimmune diseases caused by pathogenic autoantibodies or T cells specific for antigens expressed in a single organ are called *organ-specific autoimmune diseases.* By contrast, the autoimmune disease involving autoantigens expressed in multiple tissues are called *systemic autoimmune diseases* (table 1).

1. MOLECULAR MECHANISMS IN AUTOIMMUNITY INDUCTION

Autoimmune diseases are thought to be the result of breaking of the natural tolerance or circumvention of self tolerance. However, the cause of these alterations resulting in the primary injury that leads to the onset of an autoimmune disease are still poorly defined.

In general, the autoimmune diseases appear to be multifactorial requiring the concentrated action of genetic, immunologic, hormonal and environmental factors.

The initiation of autoimmune phenomena is related to the activation of self-reactive lymphocytes and implicitely to the recognition of self antigens. There are very clear evidences indicating that self-reactive lymphocytes encounter and are activated by *anatomically sequestered antigens* (13). The best example are sympathetic ophthalmia (14), following eye injury, orchitis after resectomy and EAE, induced by injection of MBP. Less understood mechanism is the recognition of self epitopes, particularly by T cells. In principle, T cells can recognize and be activated by dominant, supradominant or cryptic epitopes (15). The behavior of an epitope as dominant or cryptic depends on various factors, including antigen processing or binding affinity of peptides to MHC molecules. Peptide-MHC interaction is dictated by adequate motifs on peptide. The efficiently processed and presented dominant epitopes of self molecules generally induce tolerance, whereas subdominant or cryptic epitopes are poor tolerogens and, under certain conditions they can break the self tolerance.

Another mechanism which can induce proliferation of self-reactive lymphocytes *is molecular mimicry* (16). Molecular mimicry consists in the presence of shared sequential determinants or three dimensional epitopes

between foreign and self antigens. If the identical linear aminoacid sequences are believed to be the basis of immunological cross-reactivity between host and microbial proteins, there are numerous examples indicating the presence of pentameric sequences shared by self and foreign antigens. For example, the streptococcal M protein contains pentamer (EKSKE) which reacts with myosin specific antibodies, from acute rheumatic fever. Sequence homologies between *Klebsiella* nitrogenase and HLA-B27 antigen could be involved in the etiology of ankilosing spondilytis, and the sequential homology shared by collagen III and EBNA 1 protein encoded by Epstein-Barr Virus (EBV) could have any implication in rheumatoid arthritis. Similarly, the analogy between VP2 protein of polio virus and acetylcholine receptor (AchR), could trigger cross reactive antibodies able to block the cholinergic receptor, a phenomenon significant for the development of myasthenia gravis.

An alternate form of molecular mimicry may require only structural similarities for cross immune recognition (for instance, the cross-reaction between α-helical streptococcal protein and the α-helix of α-keratin, myosin, tropomyosin, laminin, vimentin).

To conclude, based on some linear or spatial structural parameters of the antigenic determinant, three major types of molecular mimicry can be considered: a) identical sequential epitopes shared by foreign and self proteins; b) similar, but not identical epitopes which have 3 dimensional shapes; c) in certain cases, even dissimilar epitopes with a little cross reactivity, sufficient to activate T cells;

Another mechanism which can lead to the activation of self-reactive clones consists in the generation of *neoself determinant,* which can resemble the self epitopes. Such determinants can occur subsequent to chemical or viral alteration of self antigens. For instance, viruses can promote autoimmunity by induction of new self-peptide determinants exposed on the surface subsequent to budding of the virus, or by viral promoted alterations of the cellular machinery of transcription, translation or postranslational processing. It is known that some viruses induce ectopic expression of FcR or redistribute intracellular antigens. e.g. SS-B nuclear antigen is relocated on cell surface, or modify the expression of MHC molecules on target cells (for example human adenovirus type 12 or Radiation induced Leukemia Virus (RaLV) can down regulate class I antigens expression) (17). On the oher hand, drugs can contribute to autoimmune response by causing the occurrence of neoepitopes, such as procainamide, mercury or gold salts, or dipenicillamine (18).

Another possibility is that autoimmunity is the result of *errors in negative selection,* taking place in thymus. A possible experimental proof for such a mechanism may be the development of autoimmunity associated with graft *vs.* host (GVH) reaction on irradiated mice, reconstituted with bone marrow and treated with cyclosporine, when the transplanted cytotoxic cells cause destruction of the host's normal constituents (19).

The activation of self-reactive clones can also be induced by the so called lymphocyte *polyclonal activators.* A large number of microbial substances can act as direct polyclonal activators and induce *in vivo* or *in vitro* autoantibodies. In general, these antibodies are of IgM isotype and of low affinity, while tissue damage involves high affinity IgG antibodies. T cell polyclonal activators, including superantigens (in humans, rabies virus nucleoprotein and perhaps others) may also act to induce systemic autoimmunity (20, 21).

Finally, *immunoregulatory disturbance* have been considered by some authors to be the primary cause of autoimmune syndromes. There are human and experimental autoimmune diseases which involve T and B cells alterations or abnormalities in the idiotypic network.

In summary, the major mechanisms which can contribute to the activation of self reactive lymphocytes are:

a. release of sequestered antigens;
b. recognition of subdominant or cryptic epitopes;
c. recognition of neoself determinants;
d. molecular mimicry;
e. errors in self tolerance mechanisms;
f. polyclonal activation of T and B cells;
g. immunoregulatory disturbances;

2. THE GENETICS OF AUTOIMMUNE PHENOMENA

2.1. AUTOIMMUNITY: POLYGENIC OR MONOGENIC DETERMINISM?

Although the initiating event remains poorly defined, certain genes have been considered prerequisite for autoimmune phenomena. While the majority of autoimmune diseases are multifactorial, there are now well defined experimental models in which a single gene defect is responsible for the occurrence of the autoimmune disease. Thus, a multi-autoimmune syndrome (vasculitis, glomerulonephritis, autoimmune hemolytic anemia, pneumonitis, skin granulostosis) in moth eaten mice is due to a mutation in chromosome 6; *moth eaten* gene was recently shown to encode for a

phosphorylated protein. The scleroderma-like syndrome occurring in tight skin mice (TSK) results from a mutation on chromosome 2. Finally, the lupus-like syndrome which occurs in *lpr* and *gld* mice, is related to a mutation in *fas* gene, encoding the receptor for apoptosis (APO 1, presenting some homology with TNF receptor and a NGF receptor) in the case of *lpr* mice and for the ligand of *fas* gene in *gld* mice (22). Both genetic defects results in a lymphoproliferative syndrome of CD4+ cells, caused by expansion of CD_4 CD_8 double negative (DN)T cells, which are able to activate B cells to produce autoantibodies exhibiting the same specificity with those found in human SLE.

In the case of systemic diseases, several genes may be involved. In New Zealand Black (NZB) mice, which develop lupus-like syndrome and autoimmune hemolytic anemia, genes controlling hyperglobulinemia, production of anti-lymphocyte antibodies, anti-erythrocyte antibodies or favoring lupic nephritic syndrome have been mapped by classical means on different chromosomes.

A variety of autoimmune diseases are asociated with certain HLA hapotypes, as ilustrated in table 2.

2.2. GENETIC MECHANISMS IN AUTOIMMUNITY

In general, the association of disease with defined class II antigens could reflect: a) a linkage disequilibrium with other putative polymorphic susceptibility genes, e.g. TNF or genes encoding complement, located also within MHC locus; b) structural variation in class II antigens; c) variation of regulatory sequences controlling expression of class II antigens.

The relationship of class II with disease susceptibility could be mediated by one of several different immunological mechanisms. Polymorphic residues in class II molecule might differentially bind a putative antigen and present to autoreactive lymphocytes. This is the *determinant selection* model. Alternatively, since the expression of TCR is determined by the polymorphic class II antigen exposed during the thymic selection, the spectrum of TCR may be different in individuals with different genotypes. This is the *T Cell Receptor repertoire* model. Due to their receptors able to recognize self peptide-class II complexes, T cells will be more susceptible to be selected by thymic epithelial cells which express class II molecules. Molecular studies carried out in type I diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, celiac disease, revealed critical aminoacid residues, which confer susceptibility or resistance to disease. So far, there is no evidence for any interconnectedness between a particular T cell haplotype or polymorphic T cell gene structure and any autoimmune

condition. A single exception is represented by experimental allergic encephalitis (EAE) induced in mice and rats by injection of myelin basic protein (MBP), in which it was shown that T cells specific for well defined epitopes of MBP use genes from the same Vβ or Vα families (Vβ8.2 and Vα4) (23). This observation relating preferential V gene usage in an autoimmune disease, was not supported by studies of expression of V gene families in viral diseases, the fact being an exception for MBP-specific T cells.

The transcriptional control of MHC class II molecules is complex and recruits cis/trans regulatory factors, which ensure the developmental and tissue-specific synthesis of MHC molecules. The transcriptional activators or repressors usually belong to multigenic families, having a variable and combinatorial expression in different cell types. The interaction or the competition of these factors at the promotor or enhancer site finely modulates MHC genes transcription, under the influence of some intracellular (viral repressors or inducers) or extracellular (hypoxia, heat shock, alcohol) stimuli. Mutations or polymorphisms in the control regions of MHC genes thus will modify their expressitivity or will lead to the transcription of some genes with autoimmune potential. Although it is rather an immunodeficiency than an autoimmune state, in the "bear lymphocyte syndrome" the lymphocytes do not express MHC class II antigens, on their surface, due to the constitutive lack of a transcriptional factor, which binds class II gene promoter in order to allow RNA polymerase II binding.

2.3. PREFERENTIAL USAGE OF V GENES IN PATHOGENIC Igs AND TCRs

A considerable atte...on was paid to the study of molecular feature of V genes coding for antibody specificities. Thus, it was important to decipher if there is a biased usage of certain V gene families or a particular pairing of V_H and V_k genes in autoantibodies, and this knowledge contributed significantly to the understanding of the molecular substrate of autoimmune reactions.

Based on DNA homology, the variable germline segments have been classified in several families, refered to as V gene families. In humans, about 100–200 V_H genes are classified în 7 families, whereas 80 V_k segments have been classified in 4 families. The study of germline fragments expressed in murine strains prone to autoimmunity or in human subjects developing autoimmune diseases reveals no important differences in comparison with the normal animals bearing the same V_H haplotypes, or healthy human subjects. Furthermore, the analysis hybridomas producing autoantibodies demonstrates

that the expression, as well as the combination of V_H with V_k is random. There are a few exceptions from this general rule, namely a weak overexpression of 3' located V families or high utilization of V_H4 family in autoantibodies with certain specificities, i.e. anti-erythrocyte antibodies, exhibiting cold agglutinin properties. Similary, no particular V_h:V_k association was observed in autoantibodies, excepting murine antibodies specific for some polysaccharide antigens like those specific for erythrocyte antigens, able after bromelin treatment to react with trimethylammonium, or human cold agglutinin which recognize erythrocytic epitopes of polysaccharidic nature.

As we discussed above, Burnet proposed that self-reactive clones arise from conversion of clones specific for foreign antigens, subsequent to mutations in the genes encoding for Ig receptor or TCR. The sequence analysis of $V\alpha$ and $V\beta$ subgenes expressed on autoreactive T cells evidenced a lack of mutations, like in T cells specific for foreign antigens. Furthermore, addition of extranucleotides or deletion during rearrangement of $V\alpha$, $V\beta$ in their N diversity regions, represent a molecular basis for T cell receptor variability, and no difference emerges between T cells specific for autoantigens or foreign antigens. The investigation of V genes expressed in autoantibodies finds that while important fractions of these antibodies use rearranged V genes with identical structure with the germline V fragments, in other autoantibodies highly mutated genes are used. Some authors considered this observation as a proof for antigen driven selection of autoantibody. However, it should be pointed out that, for example, there is no evidence that in lupus, DNA or immune complexes represent the stimuli for anti-DNA and rheumatoid factor, respectively, autoantibodies, even though these autoantibodies sometimes show extensive somatic mutation.

2.4. CYTOKINES AND THEIR GENES IN AUTOIMMUNITY

There are some data indicating dysregulation in the cytokine genes, which can be present in autoimmune diseases. In table 3 there is depicted the alteration of cytokine action in human and experimental lupus, as well as in human rheumatoid arthritis and experimental arthritis. However, the current knowledge of the cytokine intervention in disease is still scarce and firm conclusions cannot be grown. For instance, in systemic lupus erythematous, the prototype of systemic autoimmune disease in which the antibody production is an essential feature, the increased cytokine concentration stimulating B cell growth is likely to be important. However, it does not clearly appear whether the cytokine dysregulation contributes to the primary injury,

initiating autoimmune disease, or it represents an epiphenomenon, mirroring the alteration which occur subsequent to the secondary injury or destructive phase of some autoimmune diseases, in which a multitude of antigens are released and a multitude of clones are activated.

The role of the complement system in the destruction of nonself is clear and molecularly analyzed. The fact that complement genes or complement receptor genes could be altered in autoimmune diseases, may allow the prediction of their role in autoimmune pathogenesis and in the susceptibility for autoimmune phenomena.

Finally, autoantibodies specific for FcR may constitute, even though not the cause, at least an adjuvant mechanism in the pathology of certain autoimmune states (such a process can be responsible for some forms autoimmune hemolytic anemia).

3. γδ T CELLS AND $CD5^+$B CELLS: THEIR ROLE IN AUTOIMMUNITY

3.1. γδ T CELLS

T and B lymphocytes represent heterogenous populations, exhibiting different phenotypic markers and distinct functions; for example mice T cells are divided in two subpopulations, based on the genes encoding TCR, that is αβ and γδ. Both types of receptors are connected to the same intracytoplasmic transduction system (CD3 molecule) and are MHC restricted, a fundamental feature for T cells, along with self tolerance. However, there are some functional differences in what regards the tissue distribution and location of the two subsets. While the αβ cells are programmed to recognize primarily nonself antigens presented by "classical", polymorphic MHC molecules, TCRγδ binds especially peptides exposed by "nonclassical" MHC I molecules, having a limited or absent polymorphism (24). If αβ T cells are mainly encountered in peripheral blood, TCRγδ cells are preponderantly located in skin and mucosa [Dendritic Epidermal Cells (DEC), CD4, CD8, DN and Intestinal Epithelial Lymphocytes (IEL), $CD8^+$]; due to their strategic position, they are though to be involved in the local defensive processes, destroying the foreign invaders (IELs) or the own altered cells impaired by UV radiation (DECs).

The bases of TCR genetic diversity are also distinct for the two cellular subpopulations: while T cells specific for foreign antigens can use a variety of Vβ and Vα gene families, the majority of γδ T cells exhibit specificity for self antigens and are limited in V gene usage. For instance, in IELs there is a preferential usage of Vγ7 segment, while DECs use more frequently Vγ5 fragment. However, there isn't any evidence of pathogenic γδ T cells, which can transfer an experimental autoimmune disease in recipient animals and before to establish their role in autoimmunity, many experiments are still necessary to determine their normal function.

3.2. CD5$^+$ (LY–1) CELLS

B cells are divided into two major subsets, based on CD5 antigen expression, a common T cell antigen. The conventional B cells lack this surface molecule, while it is expressed in minor B cell population. Both subpopulations probably derive from omentum, fetal liver and bone marrow and their precursor disappears from bone marrow in adult life. B cells exhibit some phenotypic features, namely self-renewing capacity and constitutive production of IgM antibodies. In mice, CD5$^+$ B cells are mainly located in peritoneal and pleural cavities. This subpopulation is numerically increased in some murine strains prone to autoimmunity. For instance, near all B cells are of CD5+ phenotype in *me* mice, afflicted by multisystemic autoimmune disease while this subset is considerably enlarged in New Zealand Black (NZB) mice, prone to lupus–like disease and autoimmune hemolytic anemia. In other strains, such as MRL/*lpr* and Tight Skin Mice (TSK) the count of CD5$^+$ B cells is normal.

The hypothesis that these cells are involved in autoimmune pathogeny stems not only in animal models but also in some diseases in humans. So, an increase of this subpopulation was reported in autoimmune diseases like Sjögren syndrome, rheumatoid arthritis and scleroderma, but, interestingly enough, they are also increased in schizophrenia, in which no autoimmune component was identified in the pathogenesis of the disease.

The isolation and the analysis of antibodies produced by CD5+ population confirm that, indeed, they exhibit self-reactivity and polyspecificity. This observation led to the concept that CD5+ B cells play important role in autoimmunity. However, critical analyses of some experimental data revealed that even CD5$^+$ subset is overexpressed in some murine strains prone to disease (NZB, *me*), there is no increase in other strains (MRL/*lpr*, TSK). This hints that other genetic factors, independent from CD5$^+$ B cell function, control the incidence of autoimmune condition.

In humans, although CD5$^+$ B cells are abnormally increased in certain autoimmune states (Sjögren syndrome, scleroderma, rheumatoid arthritis), there is no such evidence in some diseases like SLE or other systemic autoimmune pathologies, diabetes mellitus or thyroiditis. Thus, it appears that organ and nonorgan specific self-reactivity is induced by both B cell, with exception of anti-bromelin and anti-thyroid antibodies produced by mouse Lyl B cells, and multispecific antibodies secreted by human CD5$^+$ cells.

One more argument not to implicate these cells in the etiology of autoimmune phenomena is the nature of antibodies secreted by them. Thus, the antibodies produced by CD5 B lymphocytes are of μ isotype, multispecific, of low affinity and bear a high degree of connectivity (they are able to form idiotype–antiidiotype networks, through multiple interactions), while in the site of autoimmune lesions most frequently are found IgG antibodies, of high affinity and extremely specific and which are the main effectors of tissue injury. There are some peculiarities of antibody diversity generation in CD5 B cells, in both humans and mice. So, a preference for λ gene expression in the light chain is observed and a low incidence of isotype switching, too. Both human and murine CD5$^+$ cells use germline V segments which didn't suffer any affinity maturation process through somatic mutations (27). Altogether, these peculiarities suggest once again that CD5 cells do not produce pathogenic autoantibodies because, according to Burnet's concept sustained by experimental findings, these later antibodies are codified by genes suffering intense somatic mutations.

Although a final conclusion is not yet to be drawn, it seems that organ-specific and systemic autoimmunity is due however to both B cell subsets. The only exception known so far are the anti-bromelin and anti-thymic antibodies secreted by murine Ly-1 B lymphocytes, highly specific for autoantigen, and the multispecific antibodies specific for self structures and synthesized by human CD5$^+$ B cells during the course of some autoimmune diseases or malignant hemopathies (for instance, chronic lymphocytic leukemia).

III. POSTULATES TO DEFINE AUTOIMMUNE DISEASE

As we discussed above, self-reactive lymphocytes are a normal constituent of the immune system and self-reactivity a normal aspect of the immune system function. In certain circumstances it clearly appears that self-reactivity

leads to autoimmunity, and pathogenic antibodies or T lymphocytes are responsible for the primary injuries of the self tissues, which in turn generate the autoimmune disease. Therefore, it was important to define, to find criteria which can be used to distinguish self-reactive antibodies or T cells bearing a physiological function, from those which are pathogenic. In 1991 (28), I proposed four postulates to define pathogenic autoantibodies and T cells and to differentiate an autoimmune state from a disease which can be accompanied by self-reactivity but is not autoimmune per se.

1. CRITERIA FOR DEFINING AN AUTOIMMUNE CONDITION

First Postulate: initially, Identification of autoantigens and demonstration of their immunogenic properties initially antibodies were used as probes to identify, purify and characterize autoantigens by classical immunochemical methods. Later, molecular biology technology allowed for the cloning of genes encoding autoantigens. Indeed, clones encoding a variety of autoantigens, e.g. human Sm (Smith antigen), histidyl-t-RNA synthetase, acetylcholine receptor insulin receptor, etc., have been isolated. The isolation of these genes allowed for the deduction of the protein sequences of autoantigens and then for the synthesis of peptides as valuable tools to identify self 3 epitopes. Since the majority of autoantigens are of protein, glycoprotein or lipoprotein origin, they carry multiple epitopes. Therefore, it is important to determine the epitopes which are recognized by pathogenic autoantibodies and in association with MHC gene products by T cells (29). Utilization of synthetic peptides allowed the determination not only of the epitopes of autoantigens interacting with pathogenic autoantibodies but also of epitopes binding to MHC gene products and recognized by autoreactive T cells.

If we accept the notion that the precursors of B lymphocytes producing pathogenic autoantibodies or T cells mediating autoimmune diseases are normally anergized, then in certain conditions of immunization with autoantigens may break the tolerance and develop self-agressive process.

There are data indicating that the immunization with autoantigens can induce the production of autoantibodies or expansion of T cells responsible for transient or chronic autoimmune diseases (30–32). It should be mentioned that in the case of autoreactive T cells clonal expansion elicited by

autoantigens is dependent on genetic factors, since certain peptides can associate only with certain MHC allelic products. For example, EAE (experimental allergic encephalitis) occurs only in mice bearing H-2^s or H-2^u alleles because self peptides generated by the processing of myelin basic protein bind to I-A^s or I-A^u alleles.

Second Postulate: Identification of pathogenic autoantibodies or T cells within lesions. Pathogenic autoantibodies can be eluted from target organs such as Coombs antibodies from erythrocytes of patients with autoimmune hemolytic anemia, antibodies against basal membrane from the kidney or lung patients with Goodpasture syndrome. Non-organ specific antibodies such as anti-DNA antibodies were isolated from the kidney of patients with lupus glomerulonephritis. Similarly, autoreactive T cells have been isolated from insulitis lesion of mice or rats prone to develop diabetes.

In some diseases such as EAE or multiple sclerosis, it was found that myelin basic protein specific T cells isolated from lymphoid organs of animals or CNS lesions and CSR respectively use restricted V beta and V alpha gene families (33–35). Thus, perhaps in the future, molecular methods could be used to identify autoreactive T cells in the lesions associated with a given autoimmune disease.

Third Postulate: Induction of lesions or symptoms of autoimmune disease by passive transfer of pathogenic autoantibodies or T cells. There are in vitro experiments indicating that antierythrocyte antibodies from patients with autoimmune hemolytic anemia are able to lyse the erythrocytes from normal subjects or that T cells isolated from patients with autoimmune thyroid disease lyse erythrocytes (36).

The ability of human autoantibodies to transfer the disease characteristic lesion or symptoms to other animal species is difficult because some human autoimmune diseases have no equivalent in animals and the genetic factors involved are different from one species to another. However, it was shown that immunoglobulin from patients afflicted with pemphigus injected in newborn mice can cause skin lesions similar to those observed in humans (37).

The best example of the role of pathogenic autoantibodies is the occurrence of transient or severe autoimmune diseases in infants born from mothers with autoimmune diseases subsequent to the transfer of autoantibodies via the placenta into fetuses. Thus, it is known that anti-AchR autoantibodies can cause myasthenia symptoms, anti-TSHR autoantibodies can cause Grave's symptoms and anti-collagen type II antibodies can cause recurrent episodes of inflammation of cartilage through the body in infants born of mothers with myasthenia gravis, Grave's disease or polychondritis, respectively.

There are also experiment systems in which it was demonstrated that the induction of lesions or symptoms characteristic of an autoimmune disease can be elicited by passive administration of autoantibodies. Thus, death of mice subsequent to hemolytic anemia was observed after injection of anti-AchR mAbs (monoclonal antibodies). Idiopathic thrombocytopenic purpura and synovitis was induced by injection of sera containing anti-platelets (38) or anti-collagen type II (39) antibodies.

There are no examples of induction of autoimmune disease by transfer of pathogenic T cells from one species to another. This is easy to be understood since the recipient develops a vigorous immune response against xenogeneic donor cells and the expansion of donor reactive T cells requires the recognition of self peptides in association with donor MHC gene products. However, recent data suggested that SCID mice represent a valuable model to circumvent these difficulties and they can develop autoimmune symptoms when reconstituted with human mononuclear cells from patients afflicted by autoimmune diseases (40).

By contrast, there is clear evidence of induction of experimental autoimmune disease by transfer of syngeneic pathogenic autoreactive T cells such as EAE, uveoretinitis, insulitis, orchitis, mercury-induced nephritis or experimental allergic neuritis. Skin lesion characteristics for scleroderma were induced by transfer of bone marrow or spleen lymphocytes from tight skin mice (TSK) (41).

Fourth Postulate: Genes encoding pathogenic autoantibodies or T cells expressed in transgenic animals should cause autoimmune disease. Studies supporting this postulate are at an early stage. In transgenic mice expressing V_H gene-IgM originating from a MRL/*lpr* hybridoma secreting anti-DNA antibodies, it was found that more than half of the transgenic B cells express receptor exhibiting anti-ss or ds DNA specificity, but apparently the IgM cells do not differentiate into antibody secreting cells. By contrast, in transgenic BALB/c mice expressing V gene-IgG of pathogenic anti-DNA antibody from BxWF1 mice, increased proteinuria and azotemia symptoms ensuing after lupus glomerulonephritis were observed (42).

These postulates together can be used to design straightforward experiments to define pathogenic autoantibodies or T cells.

Considering Witebsky's postulates (43), as well as the postulates proposed above and based on the advent of molecular immunology and biology accounts in autoimmunity, we can thus formulate some criteria to delimit an autoimmune disease. We hope these criteria will be useful not only for immunobiologists, but equally for medical students and physicians studying autoimmune entities, from a fundamental or clinical standpoint. Furthermore, these postulates can allow some direct and indirect proofs for an autoimmune condition, as we shall see below (table 4).

2. DIRECT AND INDIRECT ARGUMENTS FOR AUTOIMMUNE DISEASE DIAGNOSIS

2.1. DIRECT ARGUMENTS

The most straightforward direct evidence for an autoimmune disease stems in the reproduction of the disease in a normal recipient by transfer of autoantibodies or T cells. Obviously, such instances are rare. In a classical experiment, Harrington injected himself with plasma from a patient with idiopathic thrombocytopenia and the emergent result was platelet depletion and severe bleeding (44). However, deliberate transfer of pathogenic antibodies in humans cannot be made, because of the high risks which could arise. No such an experiment was performed to transfer T cells mediating autoimmune diseases.

An alternative design to the human-to-human transfer of autoantibodies or pathogenic T cells is that from humans to experimental animals and to observe the similitude of the induced tissue alterations with those found in human. Such transfer of autoimmunity was successful in a few cases, almost exact duplicates of human diseases being obtained. For instance, Igs obtained from patients with pemphigus and injected into newborn mice, were able to cause blisters histopathologically reproducing the lesions encountered in man (see above) (45). Similarly, anti-AchR antibodies, even if not induced myasthenia gravis in mice, they produced muscular weakness (46).

There are a few autoimmune diseases transferred in humans by experiment of nature. This is the case of autoimmune states occurring in newborns or infants born from mothers affected by autoimmune disease. Beside the previous examples related, a case of fetal heart block syndrome was described in a child born from a mother with lupus: in this later circumstance the impairments may be due to anti-Ro antibodies (47).

Finally, another direct proof for an autoimmune disease can be considered the ability of autoantibodies specific for a particular antigen, which occur in some organ-specific autoimmune diseases, to lyse the target cells. For example, autoantibodies from patients with paroxysmal cold hemoglobinuria can lyse the cells of the afflicted patients as well as the cells of the normal persons expressing the putative alloantigen (48).

The demonstration of pathogenic T cells responsible for certain autoimmune conditions is a more difficult technical account, because of the rejection of xenogeneic tissues introduced into immunocompetent animals.

However, the discovery of SCID models made possible the direct demonstration of the pathogenicity of autoreactive T cells, when injected into SCID animals. The transfer of human peripheral blood lymphocytes from a patient with lupus, in immunodeficient mice, generated a lupus-like syndrome (49). In another experiment, Volpé et al. demonstrated that infiltrated thyroid fragments implanted unter the kidney capsule of a SCID animal, were able to induce thyroiditis (50).

2.2. INDIRECT ARGUMENTS FOR AN AUTOIMMUNE DISEASE

Indirect proves for an autoimmune condition stem in:
a. induction of disease in animals by a putative autoantigen;
b. reproduction of disease in experimental animal models;
c. genetic models for autoimmune diseases;
d. detection of pathogenic antibodies or T cells within damaged tissue;

By now, several attempts were made to isolate and to indtroduce autoantigens in experimental animals in order to reproduce the autoreactive processes characterizing human autoimmune diseases. The major hindrance in obtaining successful models in the diversity of effects which may result after injection, from unresponsiveness to excessive reactions.

A notable success was the isolation and characterization of the immunologically significant epitopes of autoantigenic proteins, and, finally, the production of synthetic peptides defining epitopes recognized by B and T cells. Some of these peptides, inserted into short fusion proteins elicited immune responses in injected animals and revealed that some autoantigens carry highly conserved epitopes easily recognized by both human and animal antibodies. This is the case of Ach receptor, able to reproduce myasthenia gravis in animal model(51), and of topoisomerase I (52), against which antibodies are secreted in patients with scleroderma and TSK mice.

However, other approaches were less fruitful, and this is primarily related to the variability in immune responsiveness in different species and even in different strains. Sometimes adjuvants are used in experimental immunization and this could highly distort the pattern of immunological reactions. The specific antigen processing mechanisms, based on genomic particularities may also determine an unexpected outcome following autoantigenic peptide injection into animals. The context in which the significant epitopes are presented, namely MHC molecules, is another limiting factor for the antigen transfer experiments (53).

Under these circumstances, only four indirect proves obtained by autoantigen injection in animal models, were documented; these are thyroiditis,

developed after introduction of thyroglobulin (Tg) uveitis, reproduced with S antigen, myasthenia gravis (Ach receptor) and orchitis, emerging after crude sperm extracts injection.

A less circumstantial evidence appears in the case of EAE model, resembling human multiple sclerosis. Myelin basic protein is the trigger for autoreactive T cell clones expansion but there is no firm connection between MBP and human disease. In a similar way, collagen II can give synovitis in animal, but antibodies against this antigen are not obviously implicated in rheumatoid arthritis.

The utilization of antiidiotype antibodies is another alternative when epitopes of autoantigens are not available.

In addition to the considered immunological models, autoimmunity research takes advantage from the study of some strains of animals which have a particular phenotype and are prone to develop organ-specific autoimmune diseases. A best example is New Zealand Black (NZB) mice in which in which anti-erythrocyte antibodies occur and induce an autoimmune hemolytic anemia. F1 hybrids of NZBxNZW spontaneously develop a multisystem disease, closely resembling human SLE.

In other genetic models, lupus and related connective tissue disease manifestations are encountered: MRL/*lpr, gld* and BXSB mice, while TSK mice and UDC 200 chicken are prone to skin fibrosis, histopathologically similar with scleroderma. Thyroiditis is another autoimmune disease reproducible in genetically determined animals (OS chicken and BUF rat).

Though many of the molecular aspects of autoimmunity are still in dark and not easily to be explored, the major advances accounted during the last years, allow to define a basic support for this field of immunopathology, which could have positive outcomes in the diagnosis and therapy of autoimmune diseases. However, autoimmunity was and still remains an interference area which joins main chapters of medicine and biology. In this regard, detailed understanding of autoimmune process will lead in the meantime to a more profound view on the evolution and development of the immune system, in connection with its role in oncogenesis, cellular ageing and death an senescence of organism.

REFERENCES

1. BURNET F.M.: *The clonal selection theory of acquired immunity,* Cambridge Univ. Press, London, 1959.
2. GOODNOW C.C., ADELSTEIN S., BASTEN A., *Science,* 248, 1373–1379, 1990.
3. NOSSAL G.J.V., *Ann, Rev. Immunol.,* 1:33–62, 1983.
4. GRABAR P., *Immunol Today.,* 4, 337–340, 1983.

5. AVRAMES S., *Int. Rev. Immunol.*, 3, 1–15, 1988.
6. COOMBS R.R.A., COOMBS R.R.A., INGRAM D.G.: *The serology of conglutinin and its relation to disease*, C. C, Thomas, 1961.
7. MADAIO M.P. et. al., *J. Immunol.*, 137, 2535–2540, 1986.
8. LIBLAU R. et. al., *Eur. J. Immunol.*, 21, 1391–1395, 1991.
9. GLIMCHER L.H., SHEVACH E.M., *J. Exp. Med.*, 156, 640–645, 1982.
10. LONDEI M. et. al., *Proc Natl. Acad Sci. USA*, 86, 8502–8506, 1989.
11. JERNE N.K., *Ann. Immunol. Inst. Pasteur*, 125C, 373–389, 1974.
12. JERNE N.K., *Science*, 229, 1057–1059, 1985.
13. NIEDERKORN J.Y., *Adv. Immunol.*, 48, 191–226, 1990.
14. WUCHERPFENNING K.W., WEINER H.L., HAFLER D.A., *Immunol. Today*, 12, 277–282, 1991.
15. GAMMON G., SERCARZ E., BENICHOU G., *Immunol Today*, 12, 193–195, 1991.
16. OLDSTONE M.B.A., *Cell*, 50, 819–820, 1987.
17. BROWN G.D. et. al., *CRC Rev. Immunol.*, 8, 175, 1988.
18. GOLDMAN H., DRUET P., GLEICHMANN E., *Immunol Today*, 12, 223–227, 1991.
19. JONES L.A. et. al., *J. Exp. Med.*, 172, 1277–1285, 1989.
20. PULLEN A., MARRACK P., KAPPLER J.W., *Nature*, 335, 796–801, 1988.
21. MacDONALD H.R., et. al., *Nature*, 332, 40, 1988.
22. COHEN P.L., EISENBERG R.A., *Immunol. Today*, 13, 427, 1992.
23. URBAN J.L. et. al., *Cell*, 54, 577–592, 1988.
24. PAUL P. et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 84, 2872, 1987.
25. SRIVASTAVA R., LAMBERT M.E., in RAM B.P., HARRIS H.C., Tyle P. (eds.): *Immunology: Clinical, Fundamental and Therapeutic Aspects*, VCH New York, 99–136, 1990.
26. STHOEGER Z.M. et. al., *J. Exp. Med.*, 169, 255, 1989.
27. MEEKER T.C. et. al., *J. Immunol.*, 141, 3994, 1989.
28. BONA C.A., *Autoimmunity*, 10, 169–172, 1991.
29. ZAMVIL S.S. et. al., *Nature*, *324*, 58, 1986.
30. LEHMAN D.H., WILSON C.B., DIXON T.J., *KIdney Int.*, 5, 187, 1974,
31. ROSE N.R., WITABSKI E., *J. Immunol.*, 76, 417, 1956.
32. THEOPHILOPOULOS A.N., DIXON F.J., *Am. J. Pathology.*, 108, 322, 1982.
33. ACHA-ORBEA H. et. al., *Cell*, 54, 263, 1988.
34. BURNS F. et. al., *J. Exp. Med.*, 169, 27, 1989.
35. HAFLER D.A. et. al., *J. Exp. Med.*, 167, 1313, 1988.
36. McKENZIE W.A., DAVIES T.F., *Immunopathology*, 61, 101–103, 1987.
37. ANHALT G.J. et. al., *N. England J. Medicine*, 306, 1189, 1982.
38. MIZUTANI H. et. al., *Blood*, 75, 1809, 1990.
39. STUART J.M., DIXON F.J., *J. Exp. Med.*, 158, 378–392, 1983.
40. DUCHOSAL M.A. et. al., *J.Exp. Med.*, 172, 985, 1990.
41. WALKER M.E. et. al., *Proc Soc. Exp. Biol. Med.*, 192, 136, 1989.
42. HAHN B. et. al., *J. Cell Biochem.* suppl., 15A, 230, 1991.
43. WITEBSKI E. et. al., *J. Am. Med. Assoc.*, 164, 1439–1447, 1957.
44. HARRINGTON W.J. et. al., *J. Lab. Clin. Med.*, 115, 636–645, 1990.
45. ANHALT G.J. et. al., *New Engl. J. Med.*, 306, 1189–1196, 1982.
46. GOMEZ C.M., RICHMAN D.P., *Immunol.*, 139, 73–76, 1987.
47. ALSPAUGH M., MADDISON P.L., *Arthritis Rheum.*, 22, 796–798, 1979.
48. DONATH J., LANDSTEINER K., *Muench. Med. Wochschr.*, 51, 1590–1593, 1904.
49. DUCHOSAL M.A. et. al., *J. Exp. Med.*, 172, 985–988, 1990.
50. VOLPÉ R. et. al., *Clin Immunol. and Immunopathol.*, 67, 93–99, 1993.
51. LENNON V.A., LAMBERTY G.H., *Nature*, 285, 238–240, 1980.
52. MURYOI T. et. al., *J. Exp. Med.*, 175, 1103–1109, 1992.
53. TODD J.A. et. al., *Science*, 240, 1003–1009, 1988.

SUMMARY

Under certain conditions, the animals are able to develop immune responses against self antigens, a circumstance called autoimmunity winch sometimes may lead to the occurrence of autoimmune disease.

In the early studies, the absence or low frequency of the specific immune cells against self antigens has been considered as a consequence of clonal deletion. Recently, similar results have been suggested by experiments on transgenic or chimaeric animals.

Subsequent observations indicated that not all the self precursors are deleted.

Autoimmune diseases caused by pathogenic autoantibodies or T cells specific for antigens expressed in a single organ are called organ-specific autoimmune diseases. The autoimmune disease involving autoantigens expressed in multiple tissues are called systemic autoimmune diseases.

Autoimmune diseases appear to be multifactorial requiring the concentrated action of genetic imunologic, hormonal and environmetal factors.

The conclusion from the experimental data available so far is that in certain cases, the direct effectors of the tissular autoagression–autoantibodies and autoreactive T clones–are activated and subsequently their repertory is extended by soluble regulatory factors whose secretion is altered. However, the contributin of lymphokines and interleukines to the autoimmune disease is little revealed and one can not rush to a conclusion in this problem.

Since the genes which code the complement or its receptor can be altered in autoimmune diseases, they might play a part in the autoimmune pathogeny or in determining a genetic predisposition for autoimmune diseases.

In order to define an autoimmune disease, some criteria or postulates have been specifyed:

First Postulate: Identification of autoantigens and demonstration of their immunogenic properties.

Second Postulate: Identification of pathogenic autoantibodies or T cells within lesions.

Third Postulate: Induction of lesions or symptoms of autoimmune disease by passive transfer of pathogenic autoantibodies of T cells.

Fourth Postulate: Genes encording pathogenic autoantibodies or T cells expressed in transgenic animals should cause autoimmune disease (Bona. C).

Autoimmunity was and still remains an interference area which joins main chapters of medicine and biology. In this regard detailed understanding of autoimmune process will lead in the meantime to a more profound view on the evolution and development of the immune system, in connection with its role in oncogenesis, cellular ageing and death, and senescence of organism.

By modulating the differentiation, proliferation and activation of certain heterogenous "target" cell lines, cytokines constitute a family of soluble mediators involved in the immune and inflammatory response, as well as in the process of cicatrization and tissular reparation.

Cytokines are proteine with low molecular, weight and variable degree of glycosylation, produced by a wide range of cellular types. They can be monomeric, or can make up dimers (IL-8) or trimers (TNF) by covalent attachment. They are synthetized as precursors which, at the site of sarcoplasmatic reticulum or after transmembranal expression (TNF, M–CSF, IL-1) and extracellular excretion (IL-1), undergo partial proteolysis under the influence of specific proteases, turning into mature, active forms.

The influence of cytokines, which consists of autocrine or paracrine local effects and endocrine systemic effects, is extremely heterogenous in regard of the type of the "target" cells and of biological effects. These effects, which are neither enzymatic, nor antigen specific, ascertain the working of the "network of cytokines", where the cytokine initially produced induces the release of other cytokines which amplify or inhibit the previous one.

The receptors for cytokines are membranal proteines with high affinity for minute quantities of cytokines. Considering the structure of the extracellular part, there are several families: the family of receptors for the superfamily of immunoglobulins (Q–CSF–R, IL–1–R), the family of hematopoietic receptors (IL-2-R, IL-3-R), the family of the receptors for nerve growing factor (TNF-R) and the family of tyrosinekinasic receptors (M-CSF-R).

The mechanisms of intracellular signalizing suppose "internalization" of the ligand–receptor complex and conformational changes of the intracytoplasmatic fragment and consequent activation of the enzymatic systems which initiate the signal metabolic pathways: C-AMP pathway and phosphatidilinositol triphosphate pathway. A peculiar role is attributed to proteinkinase enzymatic system (C proteinkinase, tyrosinkinase, serintreoninkinase) which, by specific phosphorilation of certain intracellular proteins stimulates rapid transcription of the genes coding the products which mediate the biological effects of cytokines. Some of the cytokine receptors have soluble forms resulted either by enzymatic scission of the extracellular part (TL-2RS,

IL-6-RS) or by differentiate linking of m-ARN (IL-4-RS, IL-7-RS). By binding the circulating cytokines, the soluble receptors prevent their influence on membranal receptors, as well as the biological effects of the cytokines. It is also mentioned the existence of a natural antagonist of the IL-1-R receptor, which inhibits the biological influence of IL-1 by competitive mechanism.

According to the main biological effects, cytokines should be separated in: cytokines which mediate the immune response (IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, TNF, TGF) influencing especially the immunocompetent cells, cytokines which mediate the inflamatory response (IL-1, TNF, IL-6, IL-8) influencing the inflammatory cells, and cytokines which regulate hematopoiesis (GM-CSF, M-CSF, IL-3, IL-5, IL-7) influencing the stem cells by stimulating differentiation, proliferation and maturation, as well as the mature cells by stimulating their activity and prolonging their life-time.

The tolerance to non-self antigenes is still a dream.

The induction of tolerance is influenced by various factors: age, genetic factors, the composition of antigenes, the quantity of antigene, the means of administring the antigene. The induction of tolerance is enabled by measures which diminish the function of the T cells.

There are two forms of tolerance: complete tolerance and incomplete tolerance or specific anergy. A complete tolerance is usually obtained by surgery in new-borns or by complete exclusion of the immune system in adults.

Specific anergy is an incomplete tolerance which can be induced in adult animals by various methods. It prolonges in a certain degree the survival of the transplant. A lot of the experimental models in which this kind of tolerance is induced, are known as "immunological enhancement". There are a passive and an active enhancement. The most important methods for inducing a passive enhancement consisted in the administration of anti-donor antibodies.

Active enhancement was induced by immunization to antigenes of the donor (e.g. blood transfusions).

Anergy can also be obtained by removing the leukocytes from the transplanted organ.

There are several methods for tolerance to be developed. More recent data show that both B and T cells can become tolerant under certain circumstances, namely independent one from another and by following different patterns. B cells are different from T cells not only in regard of the way in which they develop tolerance, but they also show a different predisposition to develop tolerance even during ontogenesis. Although most of the attemts to induce tolerance in adult animals suggest that the mechanism presumes the involment of suppressing factors or supressing cells, there are arguments that

under certain circumstance T cells deletion plays a part. There are clews suggesting that supressing T lymphocytes contribute to the induction of tolerance.

Experimental studies showed that immunization of the recipient by using donor cells covered with antibodies prevents the rejection of grafts. Treatment with cells convered with antibodies leads to the diminishing of the cells activity. Experimental studies have also proved that the mechanisms of immunosupression are various. There are certain proves concerning the presence of a supressing seric factor and the participation of the supressing cells. Other mechanisms, as clone deletion and supressing cytokines have a leading part.

The peculiar evolution of the infectious diseases, concerning complications exacerbation, sequels or progression to chronicity, is often related to the development of either hyporeactive or hyperreactive disimmune mechanisms. These became obvious under both etiopathogenical circumstances (depending on the response of the macroorganism during viral, bacterian, fungal infections and parasitosis) and immunopathogenical patterns of the specific infectious process.

By using the most illustrative examples, the contributions of the following immune hyperergic reaction patterns to the infectious pathology: hypersensitivity (immediate–type, delayed, and granulomatosistype), autoimmunity, immunopathology due to aggresive circulating immune complexes, B and T dependent cytotoxicity, are analysed. Regarding infections accompanied by immunodepresed state, both those determined by disorders of different structural components of the immune apparatus and the effects of the pathogenic agents against the phagocytary biosystem are present. The alternatives in which the immunodeficiency is essentilly conditioned by the microorganisms or by endogenous factors (genetical or gained) are also differentiated.

The immunopathogenesis of the infection with human immunodeficiency viruses (HIV) is presented in the two viewpoints depicted by current acknowledgments.

On the one hand there is the graded course of the infectious process and of the immunopathological illness passing through the phases of cellular infection (primary and secondary), morphological and functional alterations of the cells directly injured and of the remaining cells, and finally the stage in which in the complex disimmune state developes.

On the other hand there are the consequences of the immunopathological mechanisms concerning the diagnosis of the infection (and of its complications), and the assessing of prognosis (progression, evolutive alternatives), as well as the selection of current or near future therapeutic and prophylactic conducts.

Available data attempted to delimit the relationship between bioimmunological elements which define the disimmune state on the one hand, and those which are used to identify by a graded procedure the different clinical manifestations of the infection, on the other hand.

The lately progresses in the field of immunology allowed the development of a new therapeutic alternative in oncology. Considering the promising results obtained, this therapeutic method is at the height of blast at present.

Among cytokines, those used in oncologic immunotherapy are alpha–interferon, interleukin 2 and tumoral necrosis factor. Favourable therapeutic responses have been atteined by using alpha–interferon in management of chronic myelogenous leukemia, multiple myeloma, cutaneous T cell lymphoma, Kaposi's sarcoma in AIDS patients, melanoma, renal carcinoma and interstitial carcinoid. Interleukin 2 is used in immunotherapy as LAK, LANAK adaptative cells for the cure of renal carcinoma and malignant melanoma, while TNF (tumoral necrosis factor) althogh extremely cytotoxic, can be used as therapeutic agent for solide tumors of the limbs (isolated extracorporeal circulation).

The growth factors which promote the differentiation and the development of the granulocytes, macrophages, megacaryocytes and erytrocytes (GM-CSF and GM-CSF) are used to control neuṭropenia during immunotherapy and as immnuotherapic agents as well, due to their effects on dendritic cells.

The inductors of differentiation, represented by retinoids are proved to be efficient in the treatment of acute promelocyte leukemia and juvenile chronic myhelogenous leukemia, multiple myeloma.

The immunotherapy with monoclonal antibodies either in locoregional treatments or by using AMC as carriers of several toxic molecules (immunotoxin, radio isotopes) is now being assessed.

Genetic therapy is also outlined as an effective therapeutic alternative in oncology. The first successful results concerning genetic alteration of the effective cells, genetic alteration of the tumoral cells by using suicide genes and introducing genes which code cytokines have already been reported.

Immunological disorders are involved in the etiopathogeny of several endocrinopathies. A lot of unsolved problems of endocrinology have been regarded in view of receptor and receptivity. The immunological acception proposes an etiopathogenic explanation for diseases previously considered idiopathic. Thus, literature data suggest the ideea that immune pathology of hypophysis could be much more frequent than usually.

Immune mechanisms are involved in the wide spectrum of thyroid diseases, both hyperthyroidism and hypothyroidism. Autoimmune pathogeny is incriminated in Grave's disease, autoimmune chronic thyroiditis and

primary autoimmune hypothyroidism. Recent studies demostrated that other disorders of the thyroid, such as thyroid carcinoma, subacute thyroiditis, sporadic thyromegalia, also determine immunologic disturbances in the long run.

The last studies suggest that type 1 insulin dependent diabetes mellitus is a disease generated by immune mechanism. Among immunological data which motivate the autoimmune etiopathogeny of the disease should be mentioned: the genetic predisposition, the occurence of the disease in subjects with HLA DR3 and HLA DR4, the existence of a phenotype which is necessary but not enough for the disease to occur, the presence of the antibodies against different proteins from cytoplasm, as well as from the surface of beta-cells. In the genesis of the insulitis inflammatory lesions are also involved macrophages, helper T lymphcytes and cytotoxic or suppressor T cells. The sensibility of beta-cells to the action of the interleukin potentiated by alfa-TNF, as well as the high sensibility to antioxydant substances are remarkable.

Interaction between the molecules of insulin and antibodies to insuline determine the appearance of idiotype-antiidiotype complexes. Immune mechanisms are involved in the pathogeny of adrenals, ovary (especially in premature ovarian failure) and testis (in autoimmune orchitis). A great attention is paid to immunological infertility. Polyglandular syndromes include numerous endocrine disabilities determined by autoimmune mechanisms, residing in an immune polyendocrinopathy.

The immunopathology of asthma has to be regarded in view of the fact that asthma is an inflammatory disease of the airways, in which are involved both humoral and cellular immune mechanisms. An important role in the recruitment of active pro-inflammatory cells in the bronchial wall is attributed to adhesines. The modern concept of asthma relies on the notion of underlying asthmatic diathesis, on which do operate specialized immune cells, activation receptors, cytokines, mediators and molecules of adhension. Future drug therapy of asthma foresees utilization of cytokine antagonists and adhension molecule blockers.

Ulcerative colitis and Crohn's disease are inflammatory bowel diseases of unknown etiology which show important immune disorders. Both immunogenetical and autoimmune factors of humoral immunity, as well as cell–mediated immunity are involved.

Anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) aroused great interest. Cell-mediated immunity is responsible for the lesions which occur in both diseases. In ulcerative colitis, as well as in Crohn's disease has been noticed the increase of the soluble receptor of interleukin 2 and of the soluble component of ICAM-1-adhension-protein. In the inflammatory bowel disease there are also found changes of the pro-inflammatory cytokines, as well as of the reglatory cytokines. There are incontestable proves of releasing huge quantities of free oxygen radicals, as well.

In renal diseases with immune mechanism there are involved both cell-mediated and humoral immune responses.

These results in:

Glomerular nephropathies mediated by humoral mechanisms in which the pathogenic process involves either immune complexes or antibodies against glomerular basement membrane.

A few of the glomerular nephropathies involve mainly cell-mediated immune mechanisms.

Recent experimental studies demonstrated that the antibodies can determine by themselves glomerular lesions. These are biologically characterized by a significant proteinuria as consequence of alteration of the filtration barrier.

Certain glomerular nephropathies are determined by autoantibodies against the glomerular cells. Thus, in the nephropathies from disseminated erythematosus lupus and from primitive autoimmune vasculitis have been noticed antibodies against the endothelial cells. In membranous glumerulonephritis as passive Heymann's neph ritis-type, antibodies against epithelial cells are considered to be responsable for the injuries.

Autoimmune mechanisms are incriminnated in certain glomerular nephropathies. It is considered that membranous glomerulonephritis in humans would be a nephritis in which immune complexes develop "in situ" as consequence of the conflict between antibodies and antigenes of the epithelial cells. Autoimmune mechanisms are also supposed to occur in mesangial proliferative glomerular nephropathies.

The complement system plays an important part in determining renal lesions. Recent studies demonstrated both synthesis and activation of the complement system due to its local elaboration under the circumstances of the presence of immune complexes, while the presence of the circulating components of the complement system is not always required.

Certain glomerular nephropathies show an important involvement of the cell–mediated immune mechanisms. These ones are represented by glomerular nephropathies with minimal changes and pauci–immune rapidly progressive glomerulonephritis. In the cell–mediated immune mechanism, the effectors of the immune process are cytotoxic T cells. Besides recruiting and activating monocytes, T lymphocytes are supposed to determine direct cellular lesions by cytokines.

The intrinsec glomerular population perpetuates the course of glomerular inflammation.

Proliferation of mesangial cells occurs in numerous glomerular nephropathies as a response of the soluble factors produced by platelets and

macrophages. The main role is attributed to growth factors, cytokiness, matrix components, mediators resulted in the progression of the inflammatory process. Proliferation of the mesangial cells can be influenced by the mesangial cells themselves as consequence of the autocrine and paracrine processes. Recently have been shown the proliferation of the mesangial cells induced by lecithin.

The proliferation of the mesangial cells is accompanyed by significant changes in the mesangial matrix, consisting in a veritable mesangial expansion.

The proliferation of the epithelial cells is influenced by growth factors, as well as by mediators of inflammation. The mechanism of coagulation is activated from the very first stages of the immune inflammatory process. They have sometimes, as in the progressive glomerulonephritis with extracapillary proliferation, a peculiar significance.

Platelets adhere thanks to the adhension molecules to the exposed zones of the basement membrane, as well as to the subendothelial zones. Vasoactive amines, as histamine, released by platlets, increase the permeability of the glomerulus. Platelets are involved even in the renal fibrosis.

Leukocytes from the renal inflammatory infiltrate express adhesion molecules. Intrinsec glomerular cells also express adhension molecules. These are supposed to play an important role in regulating the penetration of leukocytes, as well as their accumulation in the course of the inflammatory process in glomerulonephritis.

In the renal inflammatory process of immune nature has been demonstrated the participation of endothelins. Renal endothelins are produced by endothelial, mesangial, epithelial cells, by smooth muscle cells within the vessel wall, as well as by the cells of the collecting tubule.

On the other hand, some endothelins, such as endothelin-1, operates on endothelial cells and determines the realesing of vasodilatator substances, such as the relaxation factor of the endothelial cells. These limit the influence of endothelin, functioning as a regulatory mechanism.

There are arguments that genes encoding the HLA antigenes of the major histocompatibility system are involved in the pathogeny of certain glomerular nephropathies. The studies of molecular genetics are aspected to provide more complete information regarding the involvement of genetic factors in the immune pathology of the glomerulus.

Lately, immune markers became, as regards viral hepatitis, an essential criterion for differentiate various types of viruses, contributing to their identification, establishing the etiopathogenic mechanisms, defining the clinical and evolutive parameters, delimiting the epidemiological peculiarities and evaluating the efficiency of the curative and profilactic measures.

The markers with diagnostic significance were subject to permanent improvement, new generation techniques being chosen in order to increase considerably the index of etiology specification, even under the circumstances of genetic variants of the virus with different antigenic components.

Following up the dynamic changes of the immune markers, enables one to specify the type of infection (autolimited, persistent, evolutive), to delimit associations (with HIV, associations of the hepatitis viruses, with immunopathological manifestations), as well as tendencies of progression to a chronic liver disease or hepatocellular carcinoma.

Even thought that correlated use of the immune markers failed to delimit doubtlessly the peculiar pathogenic mechanisms, since it will judiciously direct the therapeutic concept in future, one can admit that it vacillates between the etiopathogenic effect and the immuno-pathogenic processes, especially T-mediated ones.

The etiology of systemic lupus erythematosus (SLE) remains still obscure.

In the etiopathogeny of SLE are involved both genetical and environmental factors. More elements support the idea of involvement of genetic factors in the occurence and development of SLE. Other factors, as hormones, drugs and first of all, immune factors are incriminated, too. There are several elements which support the contribution of hyperreactivity of the B type lymphocytes in the pathogeny of SLE. This is a constant aspect, determining hypergammaglobulinemia and synthesis of autoantibodies.

Many of the tissular lesions, and especially those involving the wall of the vessels and the kidneys are the consequence of tissular deposits of immune complexes. SLE is generally considered the prototype of diseases due to immuno complexes.

The deficiency of T suppressor lymphocytes is one of the most constant findings in SLE.

The serologic markers of SLE are the antibodies against a great variety of nuclear components – antinuclear antibodies (ANA). The immune mechanisms imply the involvement of autoantibodies. Tissular lesions in SLE are due to both immune complexes and autoantibodies.

The modern management of SLE proposes the method of immune modulation as therapeutic alternative. Thus, injections with high doses of immunoglobulins which seem to interfere with the clearance of the immune complexes, are attempted. There might be also a competition between autoantibodies and exogenous immunoglobulins at the site of surface receptors. On the other hand, the immunoglobulins turn soluble immune complexes into more voluminous complexes which are phagocytated and removed more easily. The treatment would operate by means of idiotype-antiidiotype mechanism.

Dressler's syndrome and postpericardiotomy syndrome represent two pericardic sufferings in the genesis of which is postulated the involvement of a similar immune mechanism. There has been shown the existence of an initial alteration of the endothelial cells, initial bleeding into the pericardic space, delayed inflammatory reaction succeeding this lesion, appearance of antimyocardial antibodies. The patients have a favourable response to antiinflammatory treatment, showing a tendency to reccurence.

The trigger role of a pre-existent or simultaneous viral infection is possible, but not proved yet.

Dressler's syndrome and postpericardiotomy syndrome, by their commune clinical and biological features, justify considering them as a commune entity.

Immune cytopenias are generally induced by two categories of mediators: specific antibodies to target cells antigenes and specific antibodies to haptens which are attached to target cells which are figurate elements from blood or/and precursors of hematopoiesis.

Hemolytic anemias determined by alloantibodies are encountered under two clinical circumstances: posttransfusional hemolysis and hemolytic disease of the new born.

Delayed alloimmune posttransfusional hemolysis (type I) is encountered in patients previously immunizated, but whose serum antibodies were in too low concentration to be decelated by pretransfusional exams.

Delayed autoimmune posttransfusional hemolysis (type II) relies on an autoimmune response induced by the first one.

Autoimmune hemolytic anemias rely on antierythrocyte antibodies against the antigenes of the erythrocyte membrane. The clinical features of the disease depend on the immune type. The appearance of antierythrocyte antibodies in prolonged AHAI proceeds from the hypothesis of central immune impairment. In vivo destruction of the erythrocytes covered by antibodies can involve two mechanisms: erythrophagocytosis by opsonic adherence or by hemolysis dependent on complement.

Immune neutropenia is determined by isoimmune autoimmune antibodies, or by drugs. Primary autoimmune neutropenias (AIN) are more frequent in children and are frequently associated with HLA DR2 phenotype. It seems to rely on immaturness of the T suppressor system, which would encourage the appearance of autoantibodies.

Secondary AIN are encountered more frequently in aged subjects, as part of certain autoimmune diseases, chronic malignant lymphoproliferations or certain forms of rheumatic disease.

Drug induced neutropenia is found with an increase frequence due to continuous multiplication of the pharmacologic specificities.

Thrombocytopenias due to immune mechanisms rely on three possible mechanisms: alloimmunization, autoimmunization and drug induced

mechanisms. In several etiopathogenic circumstances, the incriminated antibodies operate against both circulating platlets and their medullar precursors, resulting in alterations of their number (thrombocytopenia) and/or their function (immune thrombopathy).

There can be distinguished primary, congenital and secondary immune deficiences, the later due to acknowledged causes. These can be: subnutrition, infection with HIV, cytotoxic therapy as well as other pathological disòrders.

The symptomatology is dominated by the presence of the infections. In certain forms of immunodeficiency is found an increased frequency of hypersensibility as well as of the autoimmune diseases.

Autoimmune manifestations suggest the impairment of the immune regulation. Combined severe immunodeficiency syndromes are the most serious forms of the immune deficiency, which might be determined by the blocking of the lymphocyte ontogenetic process involving the stem or progenitor cells, as consequence being affected both T and B lymphocyte lines, resulting in a mixed deficiency. Thus, both humoral and cell-mediated immunity are involved.

A textbook of up-to-dateness in clinical immunology can not include all the problems raised by the recent achievements of the immunology, but it can point out the main directions of development in immunology, which are reflected in clinic pathology, and this is the goal of the present work.

CONTENT

Introduction 5
Autoimmunity (Bona C.) 7
Historical background 8
Autoimmunity at the cellular and molecular level 11
Molecular mechanisms for inducing autoimmunity 12
Genetics of the autoimmune processes 15
Postulates to define an autoimmune disease 15
Criteria for defining an autoimmune condition 17
Direct and indirect arguments for the diagnosis of autoimmune disease 18
Bibliography 31
Cytokines (Doina Drugarin, Lavinia Noveanu) 33
Biochemical characteristics 35
Biological effects 36
Receptors 37
Cytokines which mediate the immune response 41
Interleukin 2 43
Interleukin 4 46
Interleukin 10 48
Interleukin 12 51
Interferons 52
Cytokines which regulate the inflammatory response 59
Interleukin 1 61
Interleukin 6 72
Interleukin 8 75
Cytokines which regulate the hematopoiesis 77
Stimulating factors of cellular colonies 78
Stimulating factors of granulocyte and macrophage cellular colonies 83
Stimulating factors of mononuclear-phagocytary colonies 86

Stimulating factors of granulocyte cellular colonies 89
Interleukines involved in hematopoiesis 92
Selective bibliography 96
Tolerance to non-self antigenes: turning dream into reality (Peter Terness) 99
It started with the nose 100
30 Years War 102
Factors which influence the induction of tolerance 103
Two forms of tolerance 107
Mechanisms for inducing tolerance 109
Westfalia Peace? 117
Experimental pattern 118
Immunization using donor antigenes: a two-edged sword 118
Donor antigenes covered by antibodies: solution of the dilemma 122
Bibliography 186
Progresses in oncologic immunology and biological treatment of cancer (Ghilezan N.) 193
Introduction 194
Biological treatments in cancer 202
Growth factors 208
Differentiation inductors 210
Monoclonal antibodies 211
Genetic therapy 212
Therapeutic associations: cytokines and cytostatics 214
Hematological disorders 215
Solide tumors 217
Bibliography 219
Immunopathogenic mechanisms in infectious diseases (Dragomirescu M.) 223
Introduction 225
Normal and dysimmune responses to infectious agents 226
General considerations 226
Immunoreactivity in viroses 229
Immunoreactivity in bacterioses 230
Immune response in mycoses 233
Immune response in parasitoses 234
Hyperergic immune mechanisms in infectious pathology 237
Immediate, delayed and granulomatosis-type hypersensibility 237
"Self" immunopathology (autoimmunity) 242
Immunopathology of aggressive circulating immune complexes 246
Umoral-mediated cytotoxicity 252

Cellular-mediated cytotoxicity 253
Immunodepression as consequence of infection 254
General considerations 254
Immunodepressive effects of pathogenic agents 256
Inhibitory effects of the infectious agents against phagocytary apparatus 264
Selective bibliography 268
Immunopathogeny of the infection with human immunodeficiency virus (HIV) – (Dragomirescu M.) 269
Introduction 270
Immunopathogenic stages 272
Primary and secondary cellular infection (transfection) 272
Morphologic effects of HIV against infected cells 275
Dysimmune status 279
Essential consequence of immunodeficiency 282
Clinical and evolutive implications 283
Immune diagnosis of HIV infection 283
Immune clews for prognosis (progression) 289
Immunological investigations to evaluate the therapeutic and prophylactic attitudes 294
Conclusions 294
Bibliography 299
Endocrine immunopathology-up-date (Bistriceanu M.) 305
Hypothalamic-hypophyseal system 307
Thyroid gland 308
Parathyroid glands 314
Endocrine pancreas 315
Adrenal glands 318
Ovary 320
Testis 321
Immunologic male infertility 322
Immune polyendocrinopathy 325
Selective bibliography 326
Recent immune research in ulcerative colitis and Crohn's disease (Dejica D.) 331
Immune disorders in B II 333
Infectious factors 333
Immunogenetic factors 336
Autoimmune factors 339
Factors of the aberrant immune response 353
Psychoneuroimmune factors 364
Effective mechanism of inflammation in B II 365

Immune factors ... 365
Non-immune factors ... 366
Bibliography ... 369
Present achievements concerning the immunology of glomerular nephropathies (Gluhovschi Gh., Trandafirescu Virginia Schiller A.) ... 383
Glomerulonephrites determined by circulating immune complexes .. 385
"In situ" immune complexes generation ... 386
Nephrites determined by antibodies against the basement membrane
Contribution of antibodies in determining inflammatory lesions: glomerular impairments caused exclusively by direct aggression of antibodies ... 386
Glomerulonephrites induced by antibodies against the glomerular cells ... 387
Coagulation processes in inflammatory lesions ... 392
Observations regarding involvement of certain genetical factors in immune glomerular nephropathies ... 400
Progresses in the immunology of glomerular nephropathies (Gluhovschi Gh.) ... 403
Adhesion molecules in renal pathology ... 406
Participation of endothelium in immune inflammatory processes of the kidneys ... 412
Vascular regulatory factors of the immune process in immune-type glomerulonephrites ... 415
Role of dendritic cells in the immune processes which occure in glomerulonephrites ... 420
Specific features of the complement system effects in glomerular nephropathies ... 422
Proliferation of mesangial cells in correlation with cytokines and other factors ... 425
Interrelations of mesangial cells dependent on immune factors ... 430
Contribution of cytokines and growth factors in producing mesangial matrix ... 432
Update on the pathogeny of the nephropathy with IgA deposit ... 435
Immune alterations in rapidly progressive glomerulonephritis ... 440
Bibliography ... 444
The significance of the immune markers in modern acception of viral hepatites (Dragomirescu M.) ... 455
Present significance of "immune marker" notion, concerning viral hepatitis ... 456

Immune markers involvement in infection with hepatitis A virus (HAV) 457
Immune markers in infection with hepatitis B virus (HBV) 461
Immune markers involvement in infection with hepatitis D virus (HDV) 470
Contribution of markers in HCV and HEV infection 472
Conclusions 479
Bibliography 479
Systemic lupus erithematosus (Bolosiu H.D., Rednic Simona) 483
Etiology 484
Pathogenesis 501
Bibliography 511
Cardiopericardic posttraumatic syndrome (postcardiotomy and postmycardial infarction syndrome) (Bruckner I.I.) 515
Dressler's syndrome and postpericardiotomy syndrome 516
Bibliography 520
Immune cytopenias (Colița Adriana, Colița D., Dima Ileana, Raileanu-Motiu Ioana) 521
Alloantibodies 522
Autoantibodies 522
Haptens 523
Immunohemolytic anemia due to allotype antibodies 524
Hemolytic disease in new borns 528
Autoimmune hemolytic anemia (AHAI) 530
Laboratory diagnosis in AHAI 531
Evidencing antibodies on erythrocytes 532
Autoantibodies – nature and specificity 535
"Warm" Ig G autoantibodies 535
"Cold" Ig M autoantibodies 536
"Warm" Ig M autoantibodies 538
"Biphase" Ig G autoantibodies 538
Autoimmune hemolysis physiopathology 539
Autoimmune antibodies – mechanism of occuring 539
Normal immune response and cross-reactivity 540
Central immune disfunction 541
Mechanisms of autoimmune hemolysis 542
Erythrophagocytosis by opsonic adherence 542
Erythrophagocytosis by immune adherence 544
Clinical manifestations in autoimmune hemolytic amenia 549
Immune neutropenia 555
Alloimmune neutropenia 556

Drug-induced neutropenia ... 559
Thrombocytopenia determined by alloimmunization ... 559
Bibliography ... 570
Immunodeficiency (Raileanu-Motiu, Ioana, Colita Dan) ... 575
Primary immunodeficiency ... 577
Infections ... 578
Autoimmune manifestations ... 579
Manifestations of hypersensibility ... 579
Physical findings ... 580
Laboratory data ... 580
Prenatal diagnosis ... 585
Early diagnosis ... 586
Transmission and pathogenic mechanisms ... 586
Specific primary immunodeficiencies ... 590
Wiskott-Aldrich's syndrome ... 594
Ataxia-telangiectasia ... 595
Chronic muco-cutaneous candidosis ... 595
Non specific primary immunodeficiency ... 600
Treatment of primary immunodeficiency ... 604
Secondary immunodeficiencies ... 607
Malignant diseases ... 614
Various visceral alterations ... 615
Metabolic diseases ... 616
Autoimmune diseases ... 616
Bibliography ... 617
Update on immunopathology of asthma (Bogdan M.) ... 619
Asthma – inflammatory disease of the airways ... 621
Cellular mechanisms involved in the pathogeny of asthma ... 623
Contribution of adhesion molecules to the pathogeny of asthma ... 627
Pathogenesis of asthma in the view of modern researches ... 632
Update on perspectives in the therapy of asthma ... 636
Bibliography ... 639
Autoimmunity (Constantin Bona) ... 645
Historical background ... 646
Autoimmunity at the cellular and molecular level ... 648
Postulates to define autoimmune disease ... 657
References ... 663
Summary ... 665

CUPRINS

Introducere 5
Autoimunitatea (Constantin A. Bona) 7
I. Istoric 8
II. Autoimunitatea la nivelul celular și molecular 11
1. Mecanisme moleculare în inducerea autoimunității 12
2. Genetica proceselor autoimune 15
2.1. Autoimunitatea: afectare monogenică sau poligenică? 15
2.2. Mecanisme genetice în autoimunitate 17
2.3. Gene V utilizate preferențial în lg și TCR patogene 18
2.4. Citokinele și genele lor în autoimunitate 19
3. Celulele T γ δ și B CD5+: un efector celular major al autoimunității? 21
3.1. Celulele γ δ 21
3.2. Celulele B CO5+ (Ly–1) 22
III. Postulate pentru a defini o boală autoimună 23
1. Criterii de definire a unei condiții autoimune 24
2. Argumente directe și indirecte pentru diagnosticul de boală autoimună 28
2.1. Argumente directe 28
2.2. Argumente indirecte 29
Bibliografie 31

Citokine (Doina Drugărin, Lavinia Noveanu) 33
Caracteristici biochimice 35
Efecte biologice 36
Receptori 37
Mecanisme de semnalizare intracelulară 39
Calea AMPc 40
Calea fosfatidil-inozitol-fosfatului 40

I. Citokine mediatoare ale răspunsului imun 41
Interleukina 2 43
Interleukina 4 46
Interleukina 10 48
Interleukina 12 51
Interferonii 52
Factorul de transformare a creşterii 56
II. Citokine mediatoare ale răspunsului inflamator 59
Interleukina 1 61
Factorii de necroză tumorală 68
Interleukina 6 72
Interleukina 8 75
III. Citokine reglatoare ale hematopoezei 77
A. Factorii de stimulare ai coloniilor celulare 78
Factorul de stimulare a coloniilor celulare granulocitare şi macrofagice 83
Factorul de stimulare a coloniilor celulare mononuclear-fagocitare ... 86
Factorul de stimulare a coloniilor celulare granulocitare 89
B. Interleukine cu rol în hematopoeză 92
Interleukina 5 92
Bibliografie 96
Toleranţa faţă de antigenele străine: Drumul de la vis la realitate (Peter Terness, M.D.) 99
1. A început cu nasul 100
2. Războiul de 30 de ani 102
3. Factori care influenţează inducţia toleranţei 103
4. Două forme ale toleranţei 107
5. Mecanisme de inducere a toleranţei 109
6. Pacea din Westfalia? 117
Model experimental 118
1. Imunizarea cu antigene de donator: o sabie cu două tăişuri 118
2. Antigene de donatori acoperite cu anticorpi: ieşirea din dilemă 122
A. Supravieţuirea prelungită a transplantului renal 122
B. Răspunsul anticorpic suprimat 128
C. Suprimarea celulelor T 131
D. Ipoteza 135
E. Un model pentru prelungirea supravieţuirii transplantului şi... săgeata otrăvită a brahmanului 139

Toleranz gegenüber Fremdantigenen: der Weg vom Traum zur wirklichkeit (Peter Terness, M.D.) 141
1. Mit der Nase fing es an... 142
2. Der Dreißigjährige Krieg 145
3. Faktoren, die die Toleranzinduktion beeinflussen 146
4. Zwei Formen der Toleranz 150
5. Mechanismen der Toleranzinduktion 152
6. Der Westfälische Frieden? 161
Experimentelles Modell 162
1. Immunisierung mit Spenderantigenen: ein zweischneidiges Schwert 162
2. Antikörper-bedeckte Spenderantigene: der Ausweg aus dem Dilemma? 167

A. Verlängertes Nierentransplantatüberleben 167
B. Supprimierte Antikörperantwort 173
C. Supprimierte T-Zellantwort 176
D. Hypothese 181
E. Ein Modell zur Verlängerung des Transplantüberlebens und... der vergiftete Pfeil des Brahmanen 185
Literatur 186

Progrese în imunologia oncologică și tratamentele biologice ale cancerului (N. Ghilezan) 193
Introducere 194
Fiziologia sistemului imun 194
Recunoașterea antigenelor 195
Citokinele și mecanismele efectoare ale imunității 198
Tratamentele biologice ale cancerului 202
Citokine 205
Interferonul 205
Interleukina 2-IL-2 206
Factorul de necroză tumorală – TNF 208
Alte citokine 208
Factori de creștere 209
Inductori de diferențiere 210
Anticorpi monoclonali 211
Terapia genetică 212
Asociații terapeutice: citokine +/– citostatice 214
Afecțiuni hematologice 215
Tumori solide 217
Bibliografie 219

Mecanisme imunopatogene în bolile infecțioase (Mihail Dragomirescu) 223
Introducere 225
1. Răspunsuri normo- și disimune față de agenții infecțioși 226
1.1. Aspecte generale 226
1.2. Reactogenitatea imună în viroze 229
1.3. Reactogenitatea imună în bacterioze 230
1.4. Răspunsul imunitar în micoze 233
1.5. Reactogenitatea imună în parazitoze 234
2. Mecanismele imunohiperenergice în patologia infecțioasă 237
2.1. Hipersensibilitatea imediată, întârziată și granulomatoasă 237
2.2. Imunopatologia „self"-ului (autoimunitatea) 242
2.3. Imunopatologia prin complexe imune circulante agresive 246
2.4. Citotoxicitatea umoral-mediată (B) 252
2.5. Citotoxicitatea celular-mediată (T) 253
3. Imunodepresia de cauză infecțioasă 254
3.1. Aspecte generale 254
3.2. Acțiuni imunodepresoare ale agenților patogeni 256
3.3. Acțiuni inhibante ale agenților infecțioși asupra aparatului fagocitar 264
Bibliografie selectivă 268

Imunopatogenia infecției cu virusul imunodeficienței umane (HIV) (Mihail Dragomirescu) 269
Introducere 270
1. Etapele imunopatogenice 272
1.1. Infecția celulară primară și secundară 272
1.2. Efectele morfologice ale HIV asupra celulelor infectate 275
1.3. Tulburările funcționale ale celulelor restante 277
1.4. Starea disimună 279
1.5. Consecința stării imunodeficitare 282
2. Implicații clinico-evolutive 283
2.1. Imunodiagnosticul infecției cu HIV (principii generale, identificarea anticorpilor specifici, identificarea virusului) 283
2.2. Indicatori imunitari de prognostic (progresie) 289
2.3. Investigația imunologică în evaluarea mijloacelor terapeutice și profilactice 294
Bibliografie 299

Actualități în imunopatologia endocrină (Marian Bistriceanu) 305
Sistemul hipotalamo-hipofizar 307

Diabetul insipid central imun 307
Hipofizita imună 307
Glanda tiroidă 308
Boala Graves-Basedow 309
Hipotiroidismul primar autoimun 312
Tiroidita cronică autoimună (Boala Hashimoto) 313
Glandele paratiroide 314
Hipoparatiroidismul primar autoimun 314
Pancreasul endocrin 315
Diabetul zaharat (hipoinsulinismul) 315
Glandele suprarenale 318
Insuficienţa corticosuprarenală cronică primară 318
Ovarul 320
Insuficienţa ovariană prematură 320
Testiculul 321
Orhita autoimună 321
Sterilitatea masculină imunologică 322
Poliendocrinopatia imună 325
Bibliografie selectivă 326

Cercetări imunologice recente în rectocolita hemoragică şi boala Crohn (D. Dejica) 331
I. Dereglări imune din B II 333
1. Factorii infecţioşi 333
2. Factorii imunogenetici 336
3. Factorii autoimuni 339
Factorii imunităţii umorale 341
Factorii imunităţii celulare 349
4. Factorii răspunsului imun aberant 353
5. Factorii psihoneuroimuni 364
II. Mecanismele efectoare ale inflamaţiei în B II 365
1. Factorii imuni 365
2. Factorii neimuni 366
Bibliografie 369
Stadiul actual al imunologiei nefropatiilor glomerulare (Gh. Gluhovschi, Virginia Trandafirescu, A. Schiller) 383
Glomerulonefrite produse prin intermediul complexelor imune circulante 385
Formarea complexelor imune în situ 386
Nefritele produse prin anticorpi anti-MB 386
Rolul anticorpilor în producerea leziunilor inflamatorii: leziuni glomerulare produse numai prin acţiunea directă a anticorpilor. 387

Glomerulonefritele produse prin anticorpi față de celulele glomerulare . 387
Procesele de coagulare în leziunile inflamatorii 392
Observații privind intervenția unor factori genetici în nefropatiile glomerulare de natură imună 400
Progrese în imunologia nefropatiilor glomerulară (Gh. Gluhovschi) 403
Moleculele de adeziune în patologia renală 406
Participarea endotelinelor în procesele inflamatoare de natură imună de la nivelul rinichilor 412
Factori reglatori vasculari ai procesului imun în glomerulonefritele de natură imună 415
Rolul celulelor dendritice în procesele imune care au loc în glomerulonefrite 420
Particularități ale acțiunii sistemului complementar în nefropatiile glomerulare 422
Proliferarea celulelor mezangiale în relație cu citokinele și cu alți factori 425
Interrelații ale celulelor mezangiale în dependență de factori imuni 430
Rolul citokinelor și al factorilor de creștere în producerea matricei mezangiale 432
Actualități în patogenia nefropatiei cu depozite de IgA (NGIgA) 435
Modificări imune în glomerulonefritele rapid progresive 440
Bibliografie 444

Importanța markerilor imunologici în contextul actual al hepatitelor virale (M. Dragomirescu) 455
1. Semnificația actuală a noțiunii de „marker imun" 456
2. Rolul markerilor imuni în infecția cu VHA 457
3. Markeri imunologici în infecția cu VHB 461
4. Rolul markerilor în infecția cu VHD (Delta) 470
5. Aportul markerilor în infecția cu VHC și VHE 472
6. Concluzii 479
7. Bibliografie 479

Lupusul eritematos sistemic (H.D. Baloșiu, Simona Rednic) 483
Etiologie 484
Patogeneza 501
Bibliografie 511

Sindromul posttraumatism cardiopericardic (Postcardiotomic și postinfarct) (I.I. Bruckner) 515

Sindromul Dressler și sindromul postpericardiotomic 516
Bibliografie 520

Citopenii imune (Adriana Coliță, Dan Coliță, Ileana Dima, Ioana Răileanu-Moțoiu) 521
Alloanticorpii 522
Autoanticorpii 522
Haptenele 523
Anemii hemolitice prin alloanticorpi 524
Boala hemolitică a noului-născut (BHNN) 528
Anemiile hemolitice autoimune (AHAI) 530
Diagnosticul de laborator al AHAI 531
Evidențierea anticorpilor față pe eritrocite 532
Natura și specificitatea autoanticorpilor 535
Autoanticorpii IgG „calzi” 535
Autoanticorpii IgM „reci” 536
Autoanticorpii IgM „calzi” 538
Autoanticorpii IgG „bifazici” 538
Fiziopatologia hemolizei autoimune 539
Mecanismele apariției anticorpilor autoimuni 539
Răspuns imun normal și reactivitate încrucișată 540
Disfuncția imunitară centrală 541
Mecanismele hemolizei autoimune 542
Eritrofagocitoza prin aderență opsonică 542
Eritrofagocitoza și aderența imună 544
Aspecte clinice ale AHAI 549
Neutropenii imune 555
Neutropenii alloimune 556
Neutropenia indusă de medicamente 559
Trombocitopenii imune 559
Trombocitopenii produse prin alloimunizare 561
Bibliografie 570

Deficitele imune (Ioana Răileanu-Moțoiu, Dan Colița) 575
Deficitele imune primare 577
Infecțiile 578
Manifestările auto-imune 579
Manifestările de hipersensibilitate 579
Examenul obiectiv 580
Examene de laborator 580
Diagnosticul prenatal 585

Diagnosticul în perioada timpurie 586
Mod de transmitere şi mecanisme patogenice 586
Deficitele imune primare specifice 590
Deficite principale ale imunităţii mediate celular asociate cu alte simptome 594
Sindromul Wiskott-Aldrich 594
Ataxia-teleangiectazia 595
Candidoza muco-cutanată cronică 595
Deficienţele imune primare nespecifice 600
Tratamentul deficitelor imune primare 604
Deficitele imune secundare 607
Bolile maligne 614
Diferite tulburări viscerale 615
Boli metabolice 616
Bolile autoimune 616
Bibliografie 617

Actualităţi în imunopatologia astmului bronşic (Miron Bogdan) 619
Imunopatologia astmului bronşic 621
Astmul bronşic – boala inflamatorie a bronşiilor 621
Mecanisme celulare implicate în patogenia astmului bronşic 623
Rolul moleculelor de adeziune în patogenia astmului 627
Patogeneza astmului bronşic prin prisma cercetărilor actuale 632
Actualităţi şi perspective în terapeutica astmului bronşic 636
Bibliografie 639

Autoimmunity (Constantin A. Bona) 645
Historical background 646
Autoimmunity at the cellular and molecular level 648
Postulates to define autoimmune disease 657
References 663

Summary 665
Content 676

EDITURA
HELICON
TIMIȘOARA

Medicina modernă nu poate fi înțeleasă și practicată fără cunoștințe temeinice de imunologie. În patologia tuturor organelor și țesuturilor sunt implicate mecanisme imune, motiv pentru care medicul practician, indiferent de specialitatea sa, trebuie să fie înarmat cu cele mai noi și moderne cunoștințe imunologice în domeniu. Lucrarea de față își propune să pună la dispoziția celor interesați actualități în imunologia clinică în principalele domenii în care mecanismele imune sunt pregnant implicate.

Un valoros colectiv din țară ca și de la prestigioase institute de învățământ superior și de cercetare de peste hotare – S.U.A., Germania – pun la dispoziția medicilor din țara noastră cunoștințele cele mai noi în domeniul imunologiei clinice.

Un volum important de cunoștințe sunt prezentate într-un stil clar, accesibil, documentat. Prezintă stadiul actual al imunologiei clinice în principalele domenii de manifestare cu referire la autoimunitate, citokine, toleranța imună, imunologia clinică a bolilor infecțioase cu abordare în principal a SIDA și a virusurilor hepatice, imunologia clinică a bolilor endocrine, renale, digestive, hematologice, respiratorii.

Întrucât o lucrare de acest fel nu a mai apărut de mulți ani în țara noastră ea umple un gol în literatura de specialitate.

ISBN 973-9159-62-1

Lei 4500

LCR.

Prelevare puncție rahidiană
în 2 eprubete sterile sau tuburi cu capac însurubat.
Transport la laborator ca atare. sau în. cazul în termică iarna
Temporizarea 1-2h => distrugerea PMN cu 40-50% din ele.
celelalte modificații influențate

Ex macroscopic
+ transparență, culoare, fluiditate.

Transparența pe hârtie neagră
100-150 celule/mm³ sunt transparente
200 PMN sau 400 limfocite sau 700 eritrocite celor [illegible]
pleiocitoză => tulbure.

Culoare pe hârtie albă
- incolor. N.
- roșu opalescent. în hemoragii meningee sau accident de puncție
  - meningite hemoragice rare
  - meningoencefalita cărbunoasă
  - rar meningita leptospirotica
- oprirea sângerării prin metoda celor 3 tuburi
  clarificarea în tub 2 și 3 = accident de puncție

Hemoglobina rezistența alcalină
Determinarea

02 Miercuri
LCR
Rec copromult exudat
An hepatice

03 An hepatice LLC glucoză
Joi

Vineri An hepatice + coagulare (proteice)
04

Sâmbătă An hepatice Plasmocitom
05 Leptospire BK + tuberculoza
Treponema

Duminică Autovis + Sputa
06 urina + antibiogram

Luni 07 antigene streptococ
C sif.

Marți 08 coagulare și fibrinolitici
anaerobi nesporulați

Miercuri coagulare și fibrinolitici
09 anaerobi nesporulați

Joi 10 Hodgkin
+ urina + antibiogram

Vineri 11 citochimie + Mo

Sâmbătă 12 Rec total
LCR

Duminică 13 Rec total + paraziți
hemocultura

Luni 14 RFC
constante eritrocitare

Marți 15 Rec biochimie
Grupe sanguine

Miercuri Chlamydia
Rickettsia
Mycoplasma

Joi virus hepatite
+ reacții imunologice

Sâmbătă Rec LLC. coproculturi, sputa, urina, exsudat faringian
LCR
– anemii hemolitice + rec biochimie + urina
caetrificat
Duminică anemii hemolitice + restul de la LLC + microscopie
11–16. 5–10
+ secretia uretrala + TIA secretia nazala etc
10–11 { anaerobi spumati si Leptospira. rec
bacilus antracis. Rec
16.–20. antibiograme. la staf. si streptococ
+ antigene strept. si staf. + + proteine
Luni Rec LAL + anemii hemolitice
lichid pleural. amilaza. 6,50
lichid articular. 8,20
Rec 10
Marti Hepatite + rec. coagularea. 9
Difteria
Chlamidia rec spumati anaerobi $\frac{33,70}{4} = 8,40$
Miercuri Rec anemii toate
MO + constante eritrocitare colesterol
Rickettsia. + Mycoplasma.
Joi Rec. mieloproliferari cronice
grupe sanguine lipide.
prod. patologice + puroi
Vineri

tenorezistent

TIA.
- Ingestia de toxine preformate din alimente
- eliberarea de toxine în vivo.
- invazie tisulară
- eliberare de toxine și invazie tisulară

Stafilococ
7 diferite
enterotoxine.
A și B enterotoxine
→ șoc toxic.

B. cereus prod.
se compusă
fact. termorezis-
tent și rezist. la
enzime proteolitice.

B. cereus. enterotoxine.

Cl. perfringens. serovar A și D (animale)
um.
Cînd sporulează în colon
enterotoxine din spori

Cl. Botulinum.
toxine termolabile.

Vibrio. → enterotoxine

TIA.
Infecție vaginală.
— „ — uretrală
— „ — articulară
— „ — pleurală

D – – – + – – – + – – –
N + – – – + – – – + – – – +
S – – – + – – – + – – – +
P – – + – – – + – – – + –
– – + – – – + –
S – – + + – – – + – – – + – – –
D + – – – + – – – + – –
N – + – – – + – – – + –
P – – + – – – – + – –
– + – – – + –
D
P + – – + – – – + – – –
N + – – – + – – –
S + – – – + – – – + – –
– – + – – – + – – – +
– – – + – – –

X. Nr. hematii sînge ... Y. Hematii LCR

Y. Nr. leucocite sînge ... X

$$X = \frac{\text{Nr. leucocite sînge} \times \text{H LCR}}{\text{H. sînge}}$$

Nr L LCR

$$\frac{\text{H. LCR}}{\text{H sînge}}$$ – Nr L sînge

2 –
3 –
4 –
5 –
6 –
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20

21.

Sideremie

Vit B_{12} și folați